

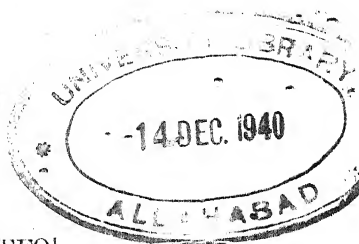
REVUE
DE
CYTOLOGIE
ET DE
CYTOPHYSIOLOGIE
VÉGÉTALES

Publiée par A. GUILLIERMOND

• Membre de l'Académie des Sciences

avec le concours de

A. EICHHORN, G. MANGENOT et L. PLANTEFOL



80215

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
• 120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN (6^e).

1939

REVUE DE CYTOLOGIE ET DE CYTOPHYSIOLOGIE VÉGÉTALES

Sur des particularités cytologiques des Sterculiacées

PAR

GÉRARD GAZET DU CHATELIER

(Mémoire reçu le 19 Juillet 1939).

SOMMAIRE

	PAGES.
I. — Introduction.....	2
II. — Historique des questions étudiées.....	3
III. — Matériel d'étude.....	6
IV. — Techniques.....	11
V. — Recherches personnelles.....	15
A. — L'APPAREIL GOMMIFÈRE DES STERCULIACÉES.....	15
1. Étude de la gomme dans la tige et le pétiole.....	16
2. Étude de la gomme dans la racine.....	19
3. Étude de la gomme dans la fleur et remarques générales..	20
B. — RECHERCHES CYTOLOGIQUES.....	24
1. Considérations générales.....	24
2. Études cytologiques sur la fleur de <i>Sterculia platanifolia</i> .	
a) Étude de la microsporogénèse.....	25
Le noyau au repos.....	26
La division hétérotypique.....	26
La division homéotypique.....	33
L'évolution du grain de pollen.....	37
b) Étude de la macrosporogénèse.....	38
Observations générales.....	38
La mitose hétérotypique.....	38
La mitose homéotypique.....	40
La fécondation.....	42
L'embryogénèse.....	44
Le nucelle des fleurs unisexuées.....	46
3. Études cytologiques sur la fleur de <i>Dombeya spectabilis</i> ..	
a) Observations morphologiques.....	47
b) Étude de la microsporogénèse (cellules-mères du pollen).....	49

c) Étude de la macrosporogénèse.....	52
d) Sur la graine.....	53
4. Études cytologiques sur la fleur de <i>Thomasia solanacea</i> .	
a) Observations morphologiques.....	54
b) Études de la microsporogénèse.....	56
La mitose hétérotypique.....	56
La mitose homéotypique.....	59
C. — CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LES RÉSULTATS.....	60
1. Interprétation des résultats caryologiques.....	60
a) Généralités.....	60
b) Le cas de non-disjonction du <i>Sterculia platanifolia</i> ..	63
2. Considérations sur la sexualité chez les <i>Sterculiacées</i>	65
a) Phénomènes morphologiques.....	65
b) Phénomènes cytologiques.....	67
VI. — Conclusions générales.....	70
VII. — Bibliographie.....	73
VIII. — Permis d'imprimer.....	81

I. — INTRODUCTION

Nous voulons exposer ici les résultats de nos recherches sur l'appareil gommifère des *Sterculiacées*, ainsi que les particularités caryologiques de trois d'entre elles :

Sterculia platanifolia L.,
Dombeya spectabilis Boj.,
Thomasia solanacea Gay.

Dans une précédente publication nous avons décrit le noyau somatique du *Sterculia platanifolia* et montré l'utilité qu'il y avait à faire de ce type (euchromocentrique) de noyau un type indépendant à côté de ceux distingués par EICHORN : types prochromosomique et chromocentrique.

Un problème intéressant se posait aux cytologistes à la suite d'une connaissance plus précise des trois catégories de noyaux somatiques végétaux : celui des structures des noyaux germinaux correspondant à ces trois types d'organisation. Le *Sterculia platanifolia* et le *Dombeya spectabilis* nous permettront de répondre à une des trois questions, car nous avons rencontré dans la deuxième espèce, comme dans la première, un noyau somatique euchromocentrique. Le *Thomasia solanacea* pose un cas caryologique singulier par les particularités curieuses du noyau de ses cellules-mères de pollen. Il ne nous a pas encore été possible d'étudier les noyaux somatiques des jeunes racines de cette plante.

Ces études caryologiques auront un autre résultat, celui de nous permettre de mieux comprendre la sexualité des Sterculiacées par comparaison avec certains faits nouveaux décrits avec précision chez d'autres végétaux. Nous saurons, grâce à ces études, que la sexualité n'est pas un problème concernant uniquement la tribu des Sterculiées, comme on l'a cru jusqu'à présent, mais qu'elle s'étend aussi à celle des Dombeyées.

* * *

Ce mémoire constitue notre deuxième thèse. Nous sommes heureux d'adresser l'expression de notre respectueuse et profonde gratitude à tous ceux qui nous ont secondé :

M. le Professeur EMBERGER, de la Faculté des Sciences de Montpellier, qui nous a témoigné une bienveillance constante, non seulement à Montpellier où nous avons commencé nos recherches, mais encore à Strasbourg où sa sollicitude nous a été d'un grand secours.

M. le Professeur P. LAVIALLE, de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui a bien voulu nous accueillir comme Assistant et favoriser nos travaux par tous les moyens en son pouvoir. Nous sommes particulièrement heureux de pouvoir lui renouveler l'expression de notre entier dévouement.

M. le Professeur GALAVIELLE, Directeur du Jardin des Plantes de Montpellier, auquel nous devons tant de matériaux d'études.

Enfin que MM. les Professeurs GUILLIERMOND, de l'Institut, et MANGENOT, de la Faculté des Sciences de Paris, nous permettent de leur exprimer avec combien de respectueuse gratitude nous ressentons le grand honneur qu'il nous font d'accueillir ce mémoire dans la *Revue de Cytologie et de Cytophysiologie* qu'ils dirigent.

II. — HISTORIQUE DES QUESTIONS ÉTUDIÉES

Les études portant sur la gomme des Sterculiacées et celles concernant leurs caractères cytologiques occupent très inégalement la littérature relative à cette famille.

Touchant la seconde partie nous n'avons, en effet, connaissance que d'un seul travail, celui de NYI, sur l'orientation sexuelle des fleurs du *Sterculia platanifolia*. L'auteur qui ne décrit que très superficiellement la dégénérescence de certains ovaires, s'attache à démontrer que ces organes disparaissent, parce que les faisceaux marginaux des carpelles qui, normalement, irriguent les ovules n'existent pas dans ces fleurs. D'après lui, la sexualité des *Sterculia* se ramènerait donc à la présence ou à l'absence des faisceaux marginaux carpellaires.

Cette idée est, à notre avis, trop simpliste. Nous en avons d'ailleurs pu contester le fondement en constatant la présence de faisceaux marginaux dans les ovaires abortifs.

Par contre, la partie concernant la gomme a fait l'objet de nombreuses études dont les résultats sont malheureusement loin de s'accorder.

Des canaux gommeux et des poches gommeuses des Sterculiacées.

La première étude relative à la gomme des Sterculiacées remonte à TRÉCUL (1866-67). Ce botaniste a rencontré le mucilage dans certaines cellules parenchymateuses des Malvacées et des Sterculiacées. Ces cellules à mucilage seraient disposées d'après lui en « séries isolées ou groupées ». Les canaux gommeux doivent leur formation à la liquéfaction de ces divers éléments. On aurait donc affaire à une formation lysigène des canaux et leur genèse serait identique chez les Malvacées et chez les Sterculiacées.

DE BARY en 1877 signale à nouveau le mucilage des Sterculiacées, mais à aucun moment il n'émet une hypothèse au sujet de sa formation. Quant à MOLLER (1852), qui étudie assez longuement les écorces de certaines Sterculiacées, il ne parle pas de la gomme qui, pourtant, y est très abondante.

Pour avoir une idée nette de la formation des canaux gommeux des Sterculiacées, il faut arriver à VAN TIEGHEM en 1885. A l'encontre de TRÉCUL, l'auteur s'attache à démontrer que les canaux n'ont pas la même origine chez les Malvacées et chez les Sterculiacées. En effet, pour la première famille, il retrouve les phénomènes décrits par TRÉCUL, avec cependant quelques légères modifications : « La gomme, dit-il expressément, provient, chez les Malvacées, de la gélification de couches internes de la membrane cellulaire ». Chez les Sterculiacées l'auteur observe des formations nettement schizogènes des canaux gommeux. « Dans cette famille, dit-il, tout au moins dans celle des plantes qui composent les tribus des Sterculiées, Hélicitérées, Eriolaenées et Dombéyées, la gomme se forme dans de larges canaux sécréteurs issus de dissociation ». Ce botaniste fait cependant des remarques fort intéressantes. Il observe, en effet, que certains canaux sont bordés par des cellules normales dont le contenu (amidon, oxalate de chaux) ne diffère en rien de celui des cellules avoisinantes. Chez d'autres, au contraire, ces cellules régulières n'existent pas, et le canal est entièrement entouré par un parenchyme plus ou moins écrasé.

Peu de temps après la publication des travaux de VAN TIEGHEM, GÉRARD (1887) reprend l'étude des canaux des Sterculiacées, et

confirme les résultats du précédent travail. Il insiste, une fois de plus, sur la formation schizogène des canaux des Sterculiacées et sur celle lysigène des Malvacées, Tiliacées et Bombacées.

De son côté et vers la même époque, DUMONT, dans des études anatomiques comparées, pense devoir attribuer aux réservoirs gommeux des origines lysigènes et schizogènes.

Malgré cette abondance d'observations plus ou moins concordantes, WALLICZECK, en 1893, dans des études portant sur les organes végétatifs du *Theobroma Cacao*, admet, contrairement à l'opinion de VAN TIEGHEM, que les réservoirs gommeux de cette espèce ont une origine lysigène. Il considère le mucilage comme provenant d'un « épaissement secondaire de la paroi primaire de la cellule », et par suite comme un mucilage dérivant de la membrane (Membranschleim).

Ces résultats contradictoires ont amené Doussor en 1902 à reprendre la genèse des formations gommeuses des Sterculiacées. Il choisit comme objet d'étude le *Sterculia platanifolia*. Sa technique est classique : « Les échantillons, dit-il, ont été fixés par macération de quelques jours dans l'alcool à 60°. Ce milieu offre l'avantage de bien coaguler la gomme sans cependant la rétracter. Les coupes, aussitôt pratiquées, sont reçues dans l'alcool à 60° et de là portées dans un bain formé par l'addition de quelques gouttes d'hématoxyline Delafield à un mélange à parties égales d'alcool à 90°, d'eau et de glycérine neutre.

« Après une immersion de trois à quatre minutes dans ce colorant les coupes sont lavées dans le même mélange alcoolique-glycériné, après quoi, elles sont montées soit en glycérine neutre, soit en glycérine gélatinée ».

Après examen de coupes longitudinales de très jeunes plantes, Doussor remarque, dans le parenchyme cortical, « des files interrompues, çà et là, de cellules différant peu comme dimensions et comme forme, des cellules voisines et qui se colorent fortement en violet. Vues sur une coupe transversale, elles ne diffèrent pas sensiblement non plus des cellules voisines, si ce n'est par les propriétés de leur contenu. » Plus loin l'auteur ajoute que « dans les parties un peu plus âgées de la tige, on pourra voir chacune de ces cellules s'agrandir tangentiellement et surtout longitudinalement. Leurs membranes ne tardent pas à se gonfler et les parois de contact se gélifient progressivement. »

Nous voilà donc ramenés en 1902, avec Doussor, aux constatations de TRÉCUL et de WALLICZECK.

Cependant, à côté de ces « formations qui sont peu abondantes », continue l'auteur, on trouve dans le *Sterculia platanifolia* d'autres canaux nombreux, entourés de cellules de bordure également colorées par l'hématoxyline : ce sont les canaux gommeux types décrits par

VAN TIEGHEM et DUMONT et, provenant de formations schizogènes. Les deux processus peuvent, d'après Doussot, aboutir à la formation de canaux ou de grandes poches gommeuses.

En somme, en résumant les descriptions des deux derniers auteurs, on arrive à la conclusion que dans le *Sterculia platanifolia*, les canaux ou poches gommeuses peuvent avoir des origines respectivement lysigènes ou schizogènes.

VAN TIEGHEM d'abord, DUMONT ensuite, ont cherché s'il y avait dans les Sterculiacées une disposition ou même une répartition constante des canaux et poches gommeux dans la tige et le pétiole.

Tous deux ont mentionné l'existence de canaux gommeux dans tous les organes du *Sterculia*, excepté la racine. Le premier de ces auteurs insiste même sur l'absence de toute gomme dans la racine du genre *Sterculia*. Or, Doussot en 1902, en étudiant anatomiquement un jeune *Sterculia platanifolia* de dix centimètres, a observé dans la racine principale des poches gommeuses: « La racine, dit-il, contrairement à l'opinion de VAN TIEGHEM et DUMONT, contient des cellules gommières isolées et des poches lysigènes. Ces poches existent exclusivement dans les parties du pivot voisines du collet; lorsqu'on s'adresse à des germinations, on en trouve dans l'écorce, les rayons médullaires et le parenchyme ligneux; lorsque la plante vieillit, la production d'un périderme fait disparaître l'écorce et les poches qu'elle renferme, mais elle laisse persister les éléments gommeux du bois... Les racines latérales et le reste du pivot n'en possèdent pas. »

De telles contradictions justifiaient amplement une révision de l'étude de la gomme chez les Sterculiacées.

III. — MATÉRIEL D'ÉTUDE

Sterculiacées ayant servi à l'étude de la gomme dans la fleur.

Sterculiées :

Sterculia cochinchinensis Pierre.

— *colorata* Roxb.

— *platanifolia* L.

Tarrietia argyrodendron Benth.

— *cochinchinensis* Pierre.

Cola acuminata Schott.

Heritiera littoralis Dryand.

— *minor* Lam.

Eriolaenées :

Eriolaena Hookeriana Wight.

— *spectabilis* Planch.

Dombeyées :

- Dombeya elegans* Cordem.
- *ferruginea* Cav.
- *Mastersii* Hook.
- *orbicularis* Cordem.
- *pilosa* Cordem.
- *punctata* Cav.
- *reclinata* Cordem.
- *scabrida* Cordem.
- *spectabilis* Cordem.

Ruizia lobata Cav.

Trochetia grandiflora Boj.

Melhania abyssinica A. Rich.

Hélictérées :

- Helicteres saccarolha* Juss.
- *lanata* Baru.
- *hirsuta* Lour.
- Plerospermum acerifolium* Benth.
- *grewiaefolium* Pierre.
- Kleinhovia hospita* L.

Hermanniées :

- Hermannia althaeifolia* L.
- *hyssopifolia* L.
- *rotundifolia* Jacq.
- Melochia corchorifolia* L.
- *odorata* Forst.
- *arborea* Blanco.

Buettneriées :

- Buettneria crenulata* Wall.
- *dasyphylla* Gay.
- *sidoeifolia* St. Hil.
- Theobroma Cacao* L.
- Herrania pulcherrina* Goudot.
- Rulingia grandiflora* Endl.
- *pannosa* R. Br.
- Commersonia echinata* Forst.
- *platyphylla* Andr.

Lasiopétalées :

- Lasiopetalum Baueri* Steetz.
- *Behrii* Muell.
- Seringia platyphylla* Gay.
- Thomasia solanacea* Gay.
- *purpurea* Gay.
- *petalocalyx* Muell.
- Guichenotia ledifolia* Gay.

Espèces ayant servi à l'étude de la gomme
dans les organes végétatifs.

Sterculiées :

Sterculia alata Rox.

— *arabica* Anders.

— *angustifolia* Roxb. = *Balanghas* L.

— *bicolor* Mast.

— *bullata* Panch. et Sebert.

— *Chicha* St. Hil.

— *guttata* Roxb.

— *hyposticta* Miq.

— *lanceolata* Cav.

— *longifolia* Vent.

— *monosperma* Vent. = *nobilis* Sm.

— *platanifolia* L.

— *quadrifida* R. Br.

— *striata* St. Hil. et Naud.

— *tomentosa* Guill. et Perr.

— *triphaca* R. Br.

Heritiera littoralis Dryand.

— *minor* Lam.

— sp.

Cola acuminata Schott. et Endl.

— *gigantea* Chev.

— *natalensis* Oliver.

— sp.

Tarrietia argyrodendron Benth.

— *cochinchinensis* Pierre.

— *trifoliolata* Benth.

Hélictéérées :

Helicteres angustifolia L.

— *brevispita* Juss.

— *carpinifolia* Presl.

— *corylifolia* Nees et Mart.

— *elongata* Wall.

— *hirsuta* Lour.

— *Isora* L.

— *orthotheca* Moon.

— *scabra* Royle.

Myrodia floribunda.

— *longifolia* Schwarz.

— *penduliflora* Juss.

Kleinhovia hospita L.

Pterospermum aceroides Wall.

— *Blumeianum* Korth.

— *acerifolium* Benth. = *heterophyllum* Hance.

— *Jackianum* Wall.

— *lanceafolium* Roxb.

— *semisagittatum* Burch.

— *suberifolium* Lam.

Dombéyées :

Dombeya alba Del.

— *acutangula* Cav. = *angulata* Cav. = *palmata* Cav.

— *ameliae* Guill.

— *bruceana* A. Rich. = *Brucei* Hochst.

— *cannabina* Hilsenb.

— *elegans* Cordem.

— *elliptica* Boy.

— *ferruginea* Cav.

— *hirsuta* Boj.

— *Mastersii* Hook.

— *obovalis* Baill.

— *ovata* Cav.

— *pilosa* Cordem.

— *punctata* Cav.

— *reclinata* Cordem.

— *scabrida* Cordem.

— *spectabilis* Boj.

— *viburnoides* Cordem.

Astiria rosea Lindl.

Pentapetes corchorifolia Planch.

— *phoenicea* L.

Trochetia grandiflora Boj.

— *uniflora* D. C.

Melhanja abyssinica A. Rich.

— *ferruginea* A. Rich.

— *Hamiltoniana* Wall.

— *velutina* Forsk.

Ruizia lobata Cav.

— *cordata* Cav.

Hermanniiées :

Hermannia alnifolia L.

— *althaeifolia* L. = *aurea* Jacq.

— *betonicoefolia* Eckl.

— *extipulata* E. Mey.

- Hermannia* Gerardi Harv.
 — *hyssopifolia* L.
 — *micans* Schrad. = *salvifolia* L.
 — *rotundifolia* Jacq. = *disticha* Schrad.
 — *viscosa* Salz.
Mahernia *betonicaefolia* Harv.
 — *chrysantha* Turcz.
 — *depressa* R. Br.
 — *pulchella* Cav.
Melochia *betonicaefolia* St. Hil.
 — *corchorifolia* L.
 — *graminifolia* St. Hil.
 — *hirsuta* Cav.
 — *inflata* Benth. = *lupulina* Sw.
 — *manducata* Wright.
 — *nodiflora* Sw.
 — *pyramidata* L.
 — *stricta* Schum.
 — *tomentosa* L.
 — *ulmaroides* St. Hil.
Waltheria *americana* L. = *indica* L. = *elliptica* Cav.
 — *bahamensis* Britton.
 — *communis* St. Hil.
 — *ferruginea* St. Hil.
 — *involucrata* Benth.
 — *parviflora* Salz.

Physodium corymbosum Prest.

Buettneriées :

- Buettneria aspera* Colebr.
 — *carthagenensis* Jacq.
 — *catalpifolia* Wall. = *sidoefolia* St. Hil.
 — *celtoides* St. Hil.
 — *charagnocarpa* Moon.
 — *cordifolia* Sagot.
 — *divaricata* Benth.
 — *echinata* Wall.
 — *Gayana* St. Hil.
 — *Hasleri* Schum.
 — *longifolia* Turcz.
 — *pilosa* Roxb.
Rulingia *grandiflora* Endl.
 — *pannosa* R. Br. = *Buettneria dasypphylla* Gay = *Comersonia Fraseri* Sieber.
 — *procumbens* Maider.

- Agenia submontana* Rose.
— *lomentosa* L.
Guazuma lomentosa H. B. = *ulmifolia* Wall.
— *ulmifolia* Lam.
Theoproma cacao L.
— *bicolor* Humb.
Commersonia platyphylla Andr.
— *echinata* Forst.
Scaphopetalum Thomsii Wild.
Maxwellia lepidota Baill.

Lasiopétalées :

- Lasiopetalum Behrii* Muell.
— *Baueri* Steetz.
— *dasyphyllum* Sieber.
— *parviflorum* Rudge.
— *ferrugineum* Sm.
— *quercifolium* Andr.
Seringia platyphylla Gay.
Thomasia petalocalyx Muell.
— *purpurea* Gay.
— *solanacea* Gay.
Guichenotia ledifolia Gay.
Keraudrenia Hillii Muell.
Seringia grandiflora Muell.

Eriolaenées :

- Eriolaena Hookeriana* Wight.
— *spectabilis* Planch.
— *Wallichii* D. C.

IV. — TECHNIQUES

Les études anatomiques ont été réalisées sur du matériel (racine, tige, feuille) traité par les méthodes ordinaires de nettoyage (eau de Javel) et de coloration (carmin, vert d'iode, fuchsine ammoniacale). Pour l'exploration des coupes épaisses nécessitées par l'étude de la genèse des réservoirs gommeux, nous nous sommes adressé à la technique suivante :

Décoloration des coupes par l'eau de Javel pendant un temps variable qui peut atteindre huit heures. Après complet blanchiment, elles sont lavées à l'eau du robinet acétifiée puis déshydratées en commençant par l'alcool à 30° pour finir par l'alcool absolu. S'il s'agit de tissus très mous, les premiers bains alcooliques doivent être suffi-

samment prolongés. Les corps sont ensuite portées dans le toluène jusqu'à complète transparence. A ce moment elles sont plongées pendant une minute ou deux dans le mélange suivant :

Alcool à 98° saturé de fuchsine acide (environ 0,08 gr.).....	100 cc.
Vert d'iode.....	0,10 gr.
Toluène.....	10 cc.

Après ce bain, les coupes sont lavées rapidement à l'alcool absolu, puis reprises par le toluène et montées au baume.

Un avantage de cette technique est d'obtenir des poches gommeuses intégralement conservées. Comme le mucilage fixe généralement bien la fuchsine, on obtient donc des préparations très lisibles.

FIXATION.

L'observation vitale étant peu commode, nous avons eu recours à un certain nombre de fixateurs. Nous avons eu soin de toujours comparer entre eux les différents résultats.

Fixateurs nucléaires.

Liquide de Helly :

Eau distillée.....	90 cc.
Chlorure mercurique.....	5 gr.
Bichromate de potassium.....	2,5 gr.
Formol commercial neutre (au moment de l'emploi).....	10 cc.

Ce mélange a permis d'obtenir une très bonne fixation du protoplasme et du noyau en une vingtaine d'heures.

Liquide de Bataillon :

Utilisé d'abord en cytologie animale par son auteur, ce mélange fut appliqué plus tard par MORTE (1928) aux Végétaux.

Acide picrique (en solution aqueuse saturée),.....	80 cc.
Acide chromique à 10 %.....	10 cc.
Acide acétique glacial.....	10 cc.

Les pièces, abandonnées à ce mélange pendant douze heures, donnent, par la suite, des aspects nucléaires très satisfaisants. Le protoplasme, bien que débarrassé de ses plus petites inclusions, conserve néanmoins sa forme.

Appliqué aux différents matériels pendant deux heures à la température de 40°, ce fixateur nous a également donné des stades cinétiques d'une netteté remarquable.

Fixateur cytoplasmique.

Nous avons eu recours au mélange de Regaud dont la composition est, rappelons-le, la suivante :

Formol commercial neutre.....	20 cc.
Bichromate de potassium en solution à 3 %.....	80 cc.

Ce fixateur a surtout servi à l'étude de la genèse de la gomme dans les extrémités de tiges et dans les jeunes boutons floraux.

INCLUSION

L'inclusion a été réalisée à la paraffine selon les procédés les plus courants. Nous n'y insisterons pas (voir Langeron).

COLORATION

Nous avons fait usage de l'hématoxyline de Heidenhain, de la safranine associée au vert-lumière, de la fuchsine acide et de la réaction de Feulgen.

La coloration par l'hématoxyline a été accompagnée des procédés les plus courants de mordantage et de différenciation à l'alun de fer.

Safranine vert-lumière.

La préparation et le mode d'emploi de ces teintures sont trop connus pour que nous nous y attardions. Notons seulement que cette double coloration donne de très beaux résultats avec le matériel fixé par la liqueur de Bataillon.

Fuchsine acide.

A la concentration de 10 gr. pour 100 d'eau anilinée, elle nous a servi à colorer les contenus gommeux.

Pour la différenciation des coupes nous avons employé la liqueur obtenue après le mélange des deux solutions suivantes :

{ Aurantia.....	0,25 gr.
{ Alcool à 90°.....	25 cc.
{ Acide phosphomolybdique.....	1 gr.
{ Soude normale.....	10 cc.
{ Eau distillée.....	65 cc.

Parallèlement à une régression de la coloration rouge, le protoplasme se teinte légèrement en jaune. La gomme, elle, reste rouge.

La réaction de Feulgen.

Rappelons-en simplement le mécanisme. On sait que les noyaux cellulaires sont caractérisés chimiquement par des substances acides : les acides nucléiques. Les nucléines en contiennent deux : l'un, l'acide zymonucléique, ne se rencontre que dans le règne végétal; l'autre, l'acide thymonucléique, appartient surtout au règne animal. Cependant chez beaucoup de végétaux on a constaté la coexistence des deux acides. Cela est important, car l'acide zymonucléique donne une réaction de Feulgen négative.

Par hydrolyse ménagée, l'acide thymonucléique libère facilement la guanine et l'adénine. On obtient ainsi l'acide thyminique qui présente une réaction remarquable et facile à réaliser : la réaction de Schiff. Il forme avec l'acide fuchsine-sulfureux une matière colorante d'un beau rouge-violet. Cette coloration est due au fait que l'hydrolyse libère non seulement les corps puriques, mais aussi une partie des groupes aldéhydiques qui sont liés aux matériaux azotés de l'acide. C'est là un moyen de distinguer l'acide thymonucléique des autres acides nucléiques. C'est pourquoi FEULGEN et ROSENBECK proposent pour cet acide la dénomination « d'acide nucléique nucléal » et pour la réaction de Schiff appliquée à ce cas particulier, le nom de « réaction nucléale ».

Le produit coloré en brun-violet obtenu est solidement fixé. Il est insoluble dans tous les solvants utilisés en technique cytologique, ce qui permet le montage des préparations dans les milieux résineux. C'est là une preuve qu'il s'agit d'un composé nouveau et non d'une simple régénération de la fuchsine, car celle-ci ne résiste pas à l'action des alcools forts.

Nous ne nous étendrons pas sur les modalités d'application de cette réaction que l'on peut trouver dans les traités de microscopie (LANGERON); rappelons seulement que la précision de la « réaction nucléale » entraîne *ipso facto* des observations que l'on ne peut transgresser qu'en connaissance de cause. En effet, puisque la réaction repose uniquement sur la libération des groupes aldéhydiques de l'acide thymonucléique, il ne faut pas, ainsi que cela s'est produit malheureusement, employer des fixateurs oxydants (transformation des alcools en aldéhydes) et formolés, lorsque l'on désire *suprimer les transformations chimiques de la chromatine*. Les seuls fixateurs à employer alors sont l'alcool absolu ou le sublimé seul ou associé à l'acide acétique. Par contre, si l'on désire n'étudier que des chromosomes, en particulier, s'il ne s'agit que de les énumérer, les fixateurs formolés et même oxydants peuvent être employés.

Ainsi conçue, cette technique est un excellent moyen de travail.

Collage des coupes.

Nous nous sommes servi d'eau gélatinée. Le liquide est placé sur lame; on y porte les coupes paraffinées. Après étalement du ruban de paraffine, l'excès d'eau est enlevé et la coupe est tannée dans une atmosphère de vapeurs formolées (1 cc. de formol dans une étuve à 40°).

Lorsqu'il s'est agi d'hydrolyser les coupes à la température de 60°, comme l'exige la réaction de Feulgen, nous ne les avons pas tannées, mais enduites d'une mince pellicule de collodion ainsi réalisée : après déparaffinage des coupes et passage dans l'alcool absolu, les lames sont plongées pendant une minute dans le mélange suivant :

Collodion.....	20 cc.
Ether anhydre.....	40 cc.
Alcool absolu.....	40 cc.

Une fois égouttées, les lames sont portées dans l'alcool à 90°. Sous forme de pellicule très fine, le collodion précipité préserve efficacement les préparations.

V. — RECHERCHES PERSONNELLES

A. — L'APPAREIL GOMMIFÈRE DES STERCULIACÉES.

Nous avons vu précédemment les nombreux travaux consacrés à l'étude de la genèse de la gomme chez ces plantes. La plupart des conclusions sont divergentes, voire contradictoires. Nous avons repris la question non plus seulement du point de vue anatomique, mais aussi et surtout du point de vue cytologique, car il semble que la diversité des solutions données au problème soit imputable à la même technique consistant à faire des coupes minces dans des organes frais, ou conservés plus ou moins dans l'alcool, et à colorer ce qui reste de contenu cellulaire après cela. La partie nouvelle de nos recherches se rapporte à l'étude de la gomme dans les appendices floraux. A notre connaissance, de pareilles observations n'avaient jamais été notées.

Les techniques que nous avons employées sont les techniques cytologiques courantes. Les matériels frais ont été traités par les mélanges de Regaud et de Helly qui conservent très bien la gomme. Les coupes ont été colorées par l'hématoxyline de Delafield ou celle de Heidenhain ou encore par la fuchsine acide ou la safranine.

La réaction de Feulgen que nous avons fréquemment appliquée colore la gomme en rouge. C'est un très bon détecteur de la gomme lorsque celle-ci voisine avec beaucoup de cellules tannifères qui, elles, se colorent alors en jaune paille.

1. Étude de la gomme dans la tige et le pétiole.

Avant de décrire nos recherches, nous exposerons très succinctement les conclusions de DUMONT qui feront mieux comprendre par la suite nos propres résultats.

Canaux sécréteurs gommeux (schizogènes) et poches ou cellules lysigènes.

Canaux gommeux constamment développés dans la moelle.

Cellules gommeuses et poches lysigènes nombreuses.

La moelle développe tantôt des canaux à gomme, tantôt des poches lysigènes.

Pas de canaux sécréteurs gommeux. File longitudinale de cellules tannifères fréquentes dans la moelle

EU-BUETTNERIÉES

Éléments sécréteurs rares dans la tige, nombreux dans la feuille.

LASIOPÉTALÉES

Cellules et petites poches lysigènes gommeuses rares dans la tige et la feuille.

STERCULIÉES

Canaux gommeux larges et nombreux développés à la fois dans la moelle, l'écorce et les deux parenchymes pétioles.

DOMBÉYÉES

Canaux étroits en petit nombre, limités à la moelle et au parenchyme pétiole interne.

HÉLICITÉRÉES

Grande variété dans la nature et le nombre des réservoirs gommeux. Pas de sécrétion gommeuse dans le limbe.

THÉOBROMÉES.

Canaux gommeux médullaires. Éléments sécréteurs rares ou absents dans la tige, nombreux dans le pétiole et le limbe.

Ces conclusions réfutent déjà celles de VAN TIEGHEM pour qui les Sterculiacées se distinguaient des Malvacées par la présence de canaux exclusivement schizogènes chez les premières, exclusivement lysigènes chez les dernières. Mais ces résultats sont eux-mêmes con-

treredits par les conclusions de Doussor, pour qui la formation des réservoirs gommeux médullaires des Sterculiées et des Dombeyées est tantôt schizogène, tantôt lysigène.

Nos études ont porté sur les fleurs des espèces énumérées page 5, sur les tiges et les feuilles des espèces énumérées page 8.

Nous prendrons comme espèce type le *Dombeya spectabilis*.

Les observations ont été faites sur des coupes longitudinales et transversales pratiquées dans la région apicale de la tige. De cette façon nous avons pu examiner le mode d'apparition de la gomme et suivre l'évolution des cellules gommifères en rapport avec l'âge des tissus.

L'extrémité de la tige est formée d'un méristème qui est classique dans ses traits essentiels. Au-dessous du mamelon végétatif l'oxalate de chaux mâclé commence à se déposer dans certaines cellules un peu plus développées que les autres. Entre la vingtième et environ la quarantième strate cellulaire à partir du sommet, on voit des cellules se colorer plus intensément que leurs voisines. Une observation minutieuse montre que dans ces cellules la région protoplasmique appliquée contre la membrane cellulosique ne se distingue plus de cette membrane. Seule la membrane mitoyenne reste visible et, apparemment, inaltérée. Protoplasme pariétal et membrane cellulosique constituent une substance homogène ou parfois finement granuleuse. Dans des strates sous-jacentes, des cellules de mêmes dimensions que les précédentes retiennent plus uniformément le colorant. Le cytoplasme entier devient rouge vif par la fuchsine, alors que les contenus des autres cellules sont colorés en rose pâle. Les noyaux ne semblent, morphologiquement, guère affectés. Ils sont légèrement plus chromatiques que ceux des cellules normales, notamment leur membrane, mais ils présentent comme eux des corpuscules chromatiques réagissant positivement dans la coloration de Feulgen.

A un niveau légèrement plus bas, des cellules gommifères isolées sont plus rares; généralement elles forment des plages comprenant, en coupe longitudinale ou transversale, cinq à six cellules. Dans chacun de ces amas, les lamelles mitoyennes sont peu visibles, la coloration du protoplasme devient plus faible. Par contre, les noyaux ont perdu leur organisation, ils sont pycnotiques et se colorent avec une intensité remarquable. Les noyaux des cellules gommeuses externes sont appliqués contre les parois des cellules normales environnantes.

Mais déjà, au même niveau, il est possible de rencontrer de pareils ensembles de cellules gommifères confondues les unes avec les autres et contenant une gomme uniformément colorée en rose, dans laquelle on suit encore les traces des membranes pectiques. Ces membranes ne semblent pas faire obstacle à la migration des noyaux des cellules centrales qui sont tous rejetés à la périphérie de la poche gommifère. Ces noyaux sont gonflés au point d'atteindre deux à trois fois leur

volume initial. Ils s'accroissent souvent les uns aux autres et constituent des masses moniliformes ou des plaquettes plus ou moins allongées.

Nous avons ainsi une poche lysigène. Comment peut-on passer de cette poche aux longs réservoirs qui se trouvent plus bas, aussi bien dans la moelle que dans l'écorce? C'est alors qu'interviennent des phénomènes assez singuliers. Les poches gommeuses dont nous venons de suivre la genèse s'allongent transversalement et surtout longitudinalement. A cet effet, les cellules voisines de la poche subissent elles-aussi une dégénérescence gommeuse. Mais cette fois les processus de dégénérescence diffèrent notablement. Il y a histolyse brutale des cellules et transformation ultérieure du contenu granuleux en gomme. Ce sont surtout les cellules comprises entre les poches superposées qui dégèrent, de sorte que rapidement l'on constate dans la moelle ou l'écorce de vastes réservoirs allongés selon l'axe de la tige, à contour très irrégulier et présentant sur leur parcours des parties dilatées et rétrécies (fig. 63b). Cependant tous les réservoirs ne commu-



FIG. 63 b. — Coupe longitudinale dans l'extrémité de la tige de *Dombeya spectabilis*, montrant la disposition et le mode d'apparition des réservoirs gommeux. Dans la partie apicale, l'appareil gommifère est représenté par des cellules isolées ou groupées. Plus loin il y a fusion de tous les éléments gommeux et formation de poches plus ou moins allongées.

La gomme est figurée par des lignes pointillées, plus ou moins concentriques.
p. g. = poche gommeuse.

niquent pas nécessairement entre eux : aucun d'entre eux, si grand qu'il puisse paraître, ne semble dépasser trois ou quatre millimètres dans les quinze ou vingt premiers millimètres de la tige. Nous nous en sommes assuré en plaçant des tiges dans l'eau plusieurs jours. Après fixation de ces tiges par l'alcool, seuls les réservoirs qui avaient été sectionnés au moment de l'expérience ont été trouvés vides; les autres avaient gardé leur mucilage.

Des observations en tous points semblables à celles que nous venons de faire ont été notées chez les représentants des tribus énumérées précédemment à l'exception des genres de Buettneriées autres que les genres *Theobroma* et *Commersonia*. Nous pourrions, par exemple, reprendre pour le *Sterculia platanifolia* la même description. Chez les *Theobroma* et les *Commersonia* les processus gommigènes sont encore exactement les mêmes, mais il convient de noter que la tige contient relativement peu de gomme; la moelle du pétiole et des nervures foliaires en renferme bien davantage.

Une autre exception également est offerte par le genre *Myrodia* (Hélictérées) où la genèse de la gomme rappelle celle des Buettneriées. Nous y reviendrons.

Nos conclusions sont donc en faveur d'une origine lysigène de la gomme dans les tiges et les feuilles de toutes les tribus, excepté les Buettneriées, moins les genres *Theobroma* et *Commersonia* et le genre *Myrodia* (Hélictérées). Et pourtant Doussor prétend que chez le *Sterculia platanifolia* l'on peut voir « une cellule primitive se diviser en quatre par l'apparition de deux cloisons perpendiculaires l'une à l'autre; ces deux nouvelles parois ne tardent pas à s'écarter à leur point de croisement en constituant un méat intercellulaire qui est le début du canal ». Des formations schizogènes aussi classiques n'ont pu être retrouvées par nous en dépit d'une grande attention. Toutefois nous croyons utile de noter que la gomme des grosses poches gommeuses paraît exercer une pression assez forte sur les cellules environnantes, au point de s'infiltrer parfois entre les cellules présentant de grands méats. De tels phénomènes restent cependant très rares.

2. Étude de la gomme dans la racine.

Nos recherches ont porté sur les racines des *Sterculia platanifolia* et *diversifolia*, des *Dombeya spectabilis* et *Mastersii*, et du *Thomasia solanacea*.

Chez la dernière espèce, nous n'avons pas rencontré de gomme; chez les autres, cette substance existe dans l'écorce avant l'apparition d'un périderme qui se situe au voisinage du pérycyle. L'appareil

gommifère ne comprend alors que quelques petites poches manifestement lysigènes.

A la suite du fonctionnement du périderme la gomme de l'écorce disparaît avec l'écorce elle-même, mais des formations lysigènes bien plus importantes que les précédentes apparaissent dans les parties des rayons médullaires évasées comprises entre les piliers libériens caractéristiques de ces plantes. Ces poches gommeuses radicales ne semblent pas atteindre des dimensions aussi grandes que celles de la tige.

Donc, avec Doussot, nous pouvons conclure à l'existence de la gomme dans la racine des *Sterculia* et des *Dombeya*, ce qui est, par suite, en contradiction avec les résultats de VAN TIEGHEM.

3. Étude de la gomme dans la fleur et remarques générales.

Dans les travaux relatifs à la gomme des Sterculiacées l'existence de ce produit dans la fleur n'a jamais été relatée. En fait les organes floraux ne semblent pas avoir été déjà l'objet d'observations anatomiques ou cytologiques.

Nous avons trouvé la gomme à des degrés divers, dans toutes les fleurs que nous avons étudiées. Chez les Sterculiées, les Dombeyées, les Hélictérées et les Eriolaenées, les produits mucilagineux atteignent une proportion considérable. Nous avons décrit leur formation chez le *Sterculia platanifolia* (GAZET DU CHATELIER, 1934); les autres espèces nous ont également montré de la gomme dans le pédoncule floral, les sépales, les pétales, les étamines (filets et anthères), les staminodes, l'ovaire et l'ovule (après la fécondation seulement dans ce dernier). Toutes proportions gardées, la gomme est plus répandue et plus abondante dans la fleur que dans les organes végétatifs.

En raison de ce que nous a enseigné la tige, il était intéressant de suivre les processus gommigènes dans la fleur. Nous prendrons encore le *Dombeya spectabilis* comme exemple.

Les préparations qui subirent la réaction de Feulgen se prêtèrent mieux que les autres aux observations, car des formations tanniques existent en abondance dans la fleur du *Dombeya* et se colorent plus ou moins par la fuchsine acide et l'hématoxyline, comme la gomme elle-même.

Au contraire, après hydrolyse par HCl et coloration par la fuchsine basique, la gomme est colorée en rouge et le tannin en jaune verdâtre.

Les premières formations gommeuses que l'on note dans une fleur de 1 mm. de diamètre se trouvent dans l'extrémité des staminodes et dans la partie médullaire du pédoncule appartenant au niveau de l'insertion du calice. La gomme est localisée dans des cellules groupées

en une plage étendue dans le pédoncule, en chapelet dans le staminode. Les cellules sont à peine plus grandes que leurs voisines normales. On y note un protoplasme pariétal coloré en rouge et une région centrale moins chromophile. La membrane cellulosique, peu colorée, est encore distincte du contenu cellulaire. La lamelle moyenne est incolore et très réfringente.

Dans les stades un peu plus âgés, les cellules se colorent intégralement en rouge. Seules les membranes moyennes restent incolores. Le noyau qui, jusqu'ici, était distinct du protoplasme, est maintenant coloré comme ce dernier en rouge. Les préparations qui ont été traitées par la fuchsine acide le montrent cependant avec une organisation encore peu altérée : le nucléoplasme est encore plus coloré que le protoplasme.

Enfin, dans un stade plus avancé, les diverses cellules mucilagineuses du pédoncule se sont fusionnées pour constituer une grosse poche gommeuse. La coloration rouge s'est beaucoup atténuée, les noyaux, à réaction de Feulgen négative, sont rejetés à la périphérie de la poche où ils forment des sortes de plaquettes allongées (colorables par la fuchsine acide). Des traces de membrane moyenne s'observent encore dans l'intérieur de la poche. On peut y rencontrer également de l'oxalate de Ca. Des phénomènes analogues se sont accomplis dans les staminodes. Les différentes cellules gommeuses se sont fusionnées ; l'extrémité de la lame pétaloïde comprend, dans sa partie moyenne, une longue poche confinant latéralement aux deux épidermes tannifères de la lame.

Pendant que se déroule la dernière partie des faits que nous venons d'analyser, d'autres formations identiques mais plus accélérées apparaissent dans les sépales, les pétales, les étamines et les carpelles. Par la suite, l'histolyse s'accroît et intéresse de nouveaux tissus aussi bien dans les pièces florales que dans le pédoncule. Dans cette dernière région, la poche initiale s'étend vers le bas, si bien que dans la fleur épanouie, une large zone de la région médullaire supérieure est transformée en une volumineuse poche gommeuse.

Notons que chez *Dombeya Mastersii* toute la région moyenne des parois carpellaires marginales se gélifie de bonne heure et constitue, de ce fait, une importante réserve de gomme.

En résumé, on retrouve dans la fleur du *Dombeya* toutes les particularités notées chez le *Sterculia platanifolia*.

Des formations identiques ont été retrouvées dans les fleurs des Eriolaenées, Hélictérées, Hermannées et Lasiopétalées. Dans ces dernières les processus gommigènes sont moins intenses qu'ailleurs.

Chez les Buettneriées la gomme existe en quantité moindre. Néanmoins chez quelques-unes d'entre elles, et en particulier chez les *Melochia*, les *Theobroma* et les *Commersonia*, les formations mucilagineuses sont encore importantes dans les pédoncules floraux, les filets

staminaux, les staménodés et l'ovaire. Mais chez ces plantes, à l'exception des *Theobroma* et des *Gommersonia*, le mucilage peut avoir dans la même espèce une origine schizogène ou lysigène. C'est là une exception très singulière. Nous avons rencontré des poches schizogènes aussi bien dans la tige que dans la feuille et la fleur. Dans ces deux derniers organes la présence de dissociations cellulaires est indiscutable. Des remarques essentielles s'imposent cependant ici :

1^o Les poches schizogènes des Buettneriées ont toujours des dimensions très réduites et ne proviennent pas d'une cellule primitive qui se divise en quatre par deux cloisons perpendiculaires l'une à l'autre afin de créer par écartement un méat intercellulaire où s'accumule la gomme. Il s'agit plutôt ici d'un simple écartement mécanique de cellules plus ou moins âgées.

2^o Pour attribuer à la gomme une origine schizogène, il est indispensable de constater que le réservoir qui la contient est bordé de cellules dont les membranes limitantes sont simples (1), c'est-à-dire réduites à la membrane cellulosique d'une seule cellule et non formée par l'accolement de deux membranes cellulosiques séparées par une membrane pectocellulosique. Au surplus, aucun lambeau membraneux ne doit faire saillie (sauf accident de préparation) dans cette cavité. Le premier de ces critères est, à notre avis, fondamental. On peut pratiquement le faire reposer sur l'absence totale de méats triangulaires ou quadrangulaires à la périphérie des poches mucilagineuses.

Partant de ces faits, il est possible de constater chez les mêmes Buettneriées des poches souvent réduites au volume d'une cellule hypertrophiée, parfois pouvant atteindre les dimensions de plusieurs cellules juxtaposées et qui ont une origine lysigène. L'observation montre qu'il faut rejeter toute opinion basée uniquement sur la présence ou l'absence de cellules plus ou moins régulières autour des réservoirs gommifères, lorsqu'il s'agit d'expliquer le mode de formation de la gomme. En effet, nous avons rencontré des petites poches schizogènes sans que les cellules de bordure fussent régulièrement agencées. Par contre, une simple observation montre que lorsque la gomme d'origine lysigène s'accumule abondamment en une région, elle exerce toujours une pression plus ou moins considérable sur les cellules environnantes qui prennent alors une forme concave du côté de la poche et une forme convexe du côté opposé. Sans doute arrive-t-il souvent que les cellules de bordure des réservoirs mucilagineux des Sterculiacées (en particulier des Sterculiées, Dombeyées et Hélicterées) soient plus petites que les cellules plus éloignées. Cette structure n'a, semble-t-il, qu'une importance de fait. En effet :

(1) Dans les formations jeunes, bien entendu, car même dans le cas de poche lysigène, si celle-ci est âgée, les cellules de bordure pourront avoir des membranes simples du côté de la cavité.

a) On connaît des cas de formation schizogène indiscutable où les cellules de bordure du canal sont plus grosses que les cellules voisines (certaines Ombellifères);

b) Lorsque l'on envisage une formation gommeuse lysigène, il faut bien penser que la dégénérescence cellulaire ne peut s'effectuer indéfiniment dans l'espace et dans le temps. Elle a une limite, sinon l'organe qui en est le théâtre disparaîtrait rapidement. Ceci rappelé, il est facile de comprendre que la gomme finira toujours par exercer une pression sur les cellules qui ont résisté à l'histolyse. Cette résistance peut être plus ou moins précoce et les cellules qui y sont prédestinées ont, de bonne heure, une activité très ralentie, d'où généralement leurs faibles dimensions, souvent même leur mort.

À côté des Buettnériées où existent donc des formations schizogènes il faut mentionner la seconde exception fournie par les espèces du g. *Myrodia*. Les formations gommeuses chez ces plantes sont issues de l'écartement des cellules. C'est un cas particulier et vraiment curieux des Hélictérées. Or, précisément, rappelons que si BENTHAM et HOOKER plaçaient les *Myrodia* dans la tribu des Hélictérées, BAILLON, lui, les classait parmi les Bombacées. SCHUMANN, dans les *Pflanzenfamilien*, partage le même point de vue que l'auteur français. Or, dans l'Index Kewensis, les *Myrodia* sont considérés comme des Sterculiacées. La position systématique de ce genre ne paraît donc pas très bien élucidée. En nous basant sur la structure du mériphyllé de la base du limbe qui représente chez les Sterculiacées un très gros caractère familial, ainsi que sur la structure florale, nous sommes arrivés à la conclusion que les *Myrodia* font bien partie des Sterculiacées.

À la suite de ces recherches, on est donc amené à conclure que chez les Sterculiacées, à l'exception des Buettnériées, moins les genres *Theobroma* et *Commersonia* et à l'exception des *Myrodia*, la gomme a une origine lysigène tout comme chez les Malvacées, les Tiliacées et les Bombacées (selon les travaux des auteurs).

La gomme se rassemble dans de grandes poches ou des pseudo-canaux chez les Eriolaenées, les Dombéyées, les Sterculiées et les Hélictérées; elle est beaucoup moins abondante chez les Hermanniées, les Buettnériées et les Lasiopétalées où on peut la rencontrer dans de simples cellules isolées. Ces observations permettent de comprendre un fait qui serait difficile à expliquer s'il existait chez les Sterculiacées de véritables canaux sécréteurs : *dans des coupes sériees transversales d'un même organe, le nombre des réservoirs gommeux n'est pas constant*. Nous avons examiné plus de cent cinquante coupes transversales de tiges et de feuilles avec leurs poches gommeuses. Une observation, même superficielle, montre qu'en passant d'une coupe à une autre de même espèce, l'anatomie reste très sensiblement la même, mais le nombre et la disposition des poches gommeuses varient. On saisit là

le point faible de la thèse de DUMONT qui croyait à l'existence de canaux schizogènes et faisait reposer des distinctions spécifiques sur leur nombre et leur disposition.

B. — RECHERCHES CYTOLOGIQUES.

1. Considérations générales.

Les progrès réalisés pendant ces dernières années dans le domaine de la caryologie grâce à une analyse de plus en plus minutieuse des détails de la cinèse, ont abouti à la distinction de deux grandes catégories de noyaux somatiques chez les plantes : les noyaux chromocentriques et les noyaux prochromosomiques. Les travaux de HEITZ (1929-1932), GRÉGOIRE (1932), EICHHORN (1930-1932-1936), EICHHORN et FRANQUET (1931), M^{me} DOUTRELIGNE (1932), etc..., ont, pour beaucoup, favorisé ces heureux résultats. Nous avons nous-même (1936) décrit la cinèse somatique du *Sterculia platanifolia* et remarqué la grande ressemblance des faits constatés chez cette espèce avec ceux découverts par M^{me} DOUTRELIGNE chez un grand nombre d'autres plantes. Nous avons cru devoir attirer l'attention sur le fait que les prochromosomes typiques tels que ceux décrits par EICHHORN chez *Cochlearia officinalis* ne devaient pas être intégralement assimilés à ceux désignés par M^{me} DOUTRELIGNE du nom de euchromocentres et que l'auteur elle-même considérait du reste, malgré la différence de vocabulaire, comme des prochromosomes. C'est pourquoi nous avons proposé de conserver les trois termes de prochromosomes, euchromocentres et chromocentres pour désigner les corpuscules que l'on rencontre le plus généralement dans les noyaux des végétaux et qui subissent, au cours des cinèses, des vicissitudes diverses.

Cependant il reste un hiatus dans l'histoire du noyau. Le noyau somatique est, sans doute, intéressant et grâce surtout à sa grande facilité d'observation (il s'agit dans tous les cas des extrémités de jeunes racines), il a permis la découverte de faits très importants. Mais il ne représente pas tous les noyaux de la plante, et nous le croyons bien moins intéressant que le noyau des cellules reproductrices. Or, à mesure que les catégories précédentes de noyaux étaient mieux analysées, il ne semble pas que l'on se soit soucié outre mesure de savoir si les différents noyaux somatiques correspondaient à des noyaux germinaux particuliers. Le problème paraît pourtant d'importance. C'est pourquoi nous avons entrepris l'étude méthodique de la mitose réductionnelle du *Sterculia platanifolia* et du *Dombeya spectabilis*, plantes à euchromocentres. La description du *Thornasia solanacea* fut faite sans que nous sachions la structure du noyau somatique; cette espèce n'ayant pu germer convenablement.

Au cours de nos recherches d'autres questions ont sollicité également notre attention. Il s'agit des phénomènes relatifs au sexe des Sterculiacées et qui entraînent avec eux des problèmes dont le sens profond ne peut échapper. De ce fait, nous verrons simultanément, dans ce chapitre, l'évolution des noyaux pendant la mitose réductionnelle et l'origine cytologique de la différenciation sexuelle.

Avant de passer à la description des noyaux reproducteurs, rappelons brièvement les principaux résultats de nos études sur le noyau somatique du *Sterculia platanifolia*.

En interphase, le noyau offre à considérer trois parties : le nucléole, les euchromocentres et le corps achromatique (enchylème nucléaire des auteurs). La substance de ce dernier est absolument homogène ; elle contient à sa périphérie les corpuscules chromophiles (euchromocentres). Avec les progrès de la prophase, on constate une augmentation de volume de ces granules chromatiques en même temps qu'une constriction dans leur région médiane.

Les parties qui confinent à l'étranglement se terminent par des traînées achromatiques de plus en plus apparentes, de plus en plus condensées et qui, finalement, se colorent comme la région centrale elle-même après une forte augmentation de volume. Chaque petit corps étranglé en « biscuit » et nettement indépendant, montre alors dans ses deux régions dilatées une ouverture circulaire. Les deux petites fenêtres ne tardent pas à se joindre par l'intermédiaire de la région étranglée. Dès lors, le clivage du chromosome est réalisé. Les deux chromosomes fils restent unis l'un à l'autre par toute leur longueur, tandis que leur région médiane devient moins chromophile que leurs extrémités. Chaque paire de chromosomes se dispose sur la plaque équatoriale de façon à ce que ses deux éléments se superposent selon l'axe du fuseau. A l'anaphase, les chromosomes se séparent, et c'est ainsi que se reconstituent les noyaux télophasiques. Pendant l'ascension des chromosomes aux pôles du fuseau et pendant leur déchromatinisation (catachromase) post-cinétique, on constate que la substance du futur nucléole ne cesse d'être liée à celle des chromosomes, si bien qu'à certains stades on peut constater une symétrie plus ou moins parfaite des gouttelettes nucléoliennes dans les deux noyaux fils.

2. Études cytologiques sur la fleur du *Sterculia platanifolia*.

a). — Étude de la microsporogénèse.

Dans un but de simplicité, nous n'emploierons pas, dans le cours de notre description, les termes consacrés aux différents temps de la prophase hétérotypique ; seules les étapes successives seront notées. Nous verrons ensuite comment et dans quelle mesure ces descriptions peuvent entrer dans le cadre des théories le plus généralement admises.

Nos figures sont empruntées indistinctement à des matériels Helly-hématoxyline, Bataillon-hématoxyline, Bataillon-safranine-vert-lumière, Regaud-hématoxyline, Helly-Feulgen, sublimé-acétique-Feulgen.

Avant obtenu d'une manière générale des résultats suffisamment constants (indépendamment de la couleur bien entendu), malgré la diversité des traitements subis par le même matériel, nous n'avons pas cru devoir multiplier les figures. Cependant ici, comme dans les mitoses somatiques, le fixateur Helly nous a donné de très beaux stades prophasiques. Par contre, les figures métaphasiques et télophasiques sont notablement plus nettes avec la liqueur de Bataillon. Les matériels Helly-Feulgen et surtout sublimé-acétique-Feulgen ont été d'une grande utilité, lorsqu'il nous a fallu analyser les prophases et les télophases.

Les blocs de paraffine ont été dépités en coupes de 5 à 12 μ d'épaisseur. La lecture de certains cordons chromatiques présentant une dualité longitudinale, de même que celle du clivage des chromosomes, sont plus aisées sur des coupes ne dépassant pas 5 à 6 μ .

NOYAU AU REPOS

Des coupes transversales dans des anthères jeunes montrent des sacs polliniques disposés deux par deux autour d'une volumineuse poche gommeuse. Après la division des cellules primordiales, lorsque les cellules-mères définitives du pollen sont bien différenciées des autres cellules du sac, on voit, dans la région médiane de ce dernier, un arc de deux assises, au plus, de grosses cellules-mères séparées de l'épiderme par quatre ou cinq strates d'éléments plus petits. La strate la plus externe s'exfolie, alors que celle qui lui est sous-jacente se transforme en assise mécanique. La troisième représente l'assise nourricière proprement dite. Ses éléments, d'abord petits, s'allongent à mesure que progresse la prophase hétérotypique. Ces cellules nourricières n'atteignent jamais de dimensions exagérées, comme cela se voit souvent ailleurs; de même, le nombre des noyaux d'une même cellule excède rarement trois.

La destruction de cette assise nourricière commence généralement avec la métaphase hétérotypique.

Les strates les plus internes se gélifiant relativement tôt, il en résulte que, sitôt commencée la prophase hétérotypique, les cellules mères ne tardent pas à se séparer en bloc des cellules du tapis.

PROPHASE. — LA DIVISION HÉTÉROTYPIQUE. — Le noyau de ces cellules présente alors une homogénéité très grande. L'hématoxyline n'y colore qu'un gros nucléole et quelques grains faiblement chromophiles, situés contre la membrane nucléaire (fig. 64). Il s'agit sans doute des euchromocentres que l'on rencontre dans toutes les prophases

somatiques. Le fait, cependant, que le réactif de Feulgen ne les colore que très faiblement montre que ces granules sont à ce moment dépourvus d'acide thymonucléique. Par contre, à un stade immédiatement ultérieur, alors que le diamètre du noyau s'est accru notablement, ce même réactif les colore en rouge pâle. L'action de l'hématoxyline devient plus précise. Cette teinture colore, en outre, le volumineux nucléole.

1^{er} temps. — A partir de ce stade des fibrilles apparaissent assez brusquement (on pourrait songer à une précipitation) contre la membrane nucléaire (fig. 65). Elles se présentent sous la forme de traînées apparemment indépendantes. L'hématoxyline les colore en noir dans les préparations faiblement régressées. Elle met en outre, en évidence, sur les filaments, des granules simples, Feulgen positifs, disposés les uns à la suite des autres. Leur répartition n'offre aucune régularité. Sur certains tronçons de filament on peut en compter jusqu'à 6; des tronçons trois fois plus longs peuvent n'en porter que 4 ou 5. Leur nombre dans des noyaux complets est d'une trentaine environ.

Comme à ce stade, il n'est plus possible de mettre en évidence les euchromocentres précédemment situés contre la membrane, on doit se demander si ces derniers ne sont pas précisément transformés en fibrilles. Une coloration des noyaux par la fuchsine montre justement que rien ne se colore à l'exception des granules portés par les fibrilles. Il est probable que ces granules sont devenus les seuls points chromatiques des euchromocentres.

2^e temps. — Quand les choses en sont là, le noyau augmente rapidement de volume. Parallèlement à cette dilatation, les éléments filamenteux primitifs se précisent, s'allongent et paraissent se rapprocher deux par deux. Dans certains cas on peut même les voir enroulés les uns autour des autres.

Cependant ces aspects sont extrêmement fugaces. Tous les filaments, en effet, ne tardent pas à se diriger vers un pôle du noyau (fig. 66) où ils vont se tasser entre la membrane et le nucléole.

3^e temps. — Ce temps, où toute la partie chromatique du noyau est nettement localisée, paraît durer plus que l'ensemble des temps précédents, à en juger par leur fréquence dans les préparations. Il est caractérisé, en outre, par un pelotonnement extrême des filaments antérieurs, à tel point qu'au maximum de la condensation il devient très malaisé de distinguer ces derniers dans la masse intensément colorée en noir. Dans la figure 67, où l'enchevêtrement est relativement peu accentué, on peut se rendre compte qu'un filament qui semble sortir de la masse, présente une dualité bien apparente.

4^e temps. — Après cette condensation extrême, l'écheveau se déroule. Mais alors qu'au temps 2 les filaments, faiblement fuchsino-

philes, présentaient une certaine individualité, ici (fig. 68), parallèlement à une plus forte chromatéité, ils paraissent constituer des trainées plus ou moins continues.

Il est toujours possible de distinguer des granules le long des filaments, mais il est plus difficile de savoir la vraie constitution de ces derniers. Sont-ils doubles ou simples? Certaines préparations pourraient faire admettre que les cordons qui s'accompagnaient précédemment se sont intimement accolés par toute leur longueur. Mais en raison de leur extrême finesse on ne saurait les dessiner tels que l'on croit les voir, sans être sûr de ne pas forcer les faits.

5^e temps. — Par contre, lorsque le déroulement précédent est en voie d'achèvement (fig. 70), certains filaments, très épaissis alors, présentent très clairement une dualité longitudinale. Le phénomène s'observe surtout au niveau des boucles.

L'aspect général est ici celui d'une trainée chromatique plus ou moins continue que colore en rouge la réaction de Feulgen et en noir intense l'hématoxyline.

Par la suite cette continuité semble s'atténuer. La figure 71 pourrait même rappeler des filaments chromatiques assez nettement individualisés, bien qu'il soit assez difficile de se rendre compte exactement où commence et où finit chaque tronçon.

La contraction des filaments, accompagnée d'une augmentation très notable de leur épaisseur, progresse rapidement à partir de ce stade. Ce processus est accompagné chez certains d'entre eux par la formation d'alvéoles. On ne peut considérer cette alvéolisation comme un clivage, mais bien comme un rapprochement moins étroit à certains niveaux, de deux filaments intimement unis l'un à l'autre par ailleurs.

Les divers cordons chromatiques eux-mêmes ne tardent pas à prendre une forme en fer à cheval ou en boucle plus ou moins largement ouverte (fig. 72-73).

6^e temps. — Toutes les boucles, après une contraction encore plus accusée, finissent par orienter vers l'extérieur leur partie convexe et vers le nucléole leurs extrémités. Il en résulte (fig. 74) un stade assez caractéristique où l'on assiste à une nouvelle polarisation des éléments. Il est impossible, ici, de ne pas être convaincu de l'existence d'une zone médiane plus claire dans certains filaments, zone qui se termine dans quelques cas par une petite alvéole.

Il est de toute évidence qu'un examen rapide, joint à une méconnaissance des stades antérieurs, ferait penser immédiatement à un clivage normal.

Ce temps dure relativement peu. En effet, les boucles précédentes finissent par perdre leurs dispositions respectives pour s'éparpiller. en quelque sorte, dans tout le corps achromatique où elles se logeront surtout dans le voisinage de la membrane nucléaire. Entre temps, les

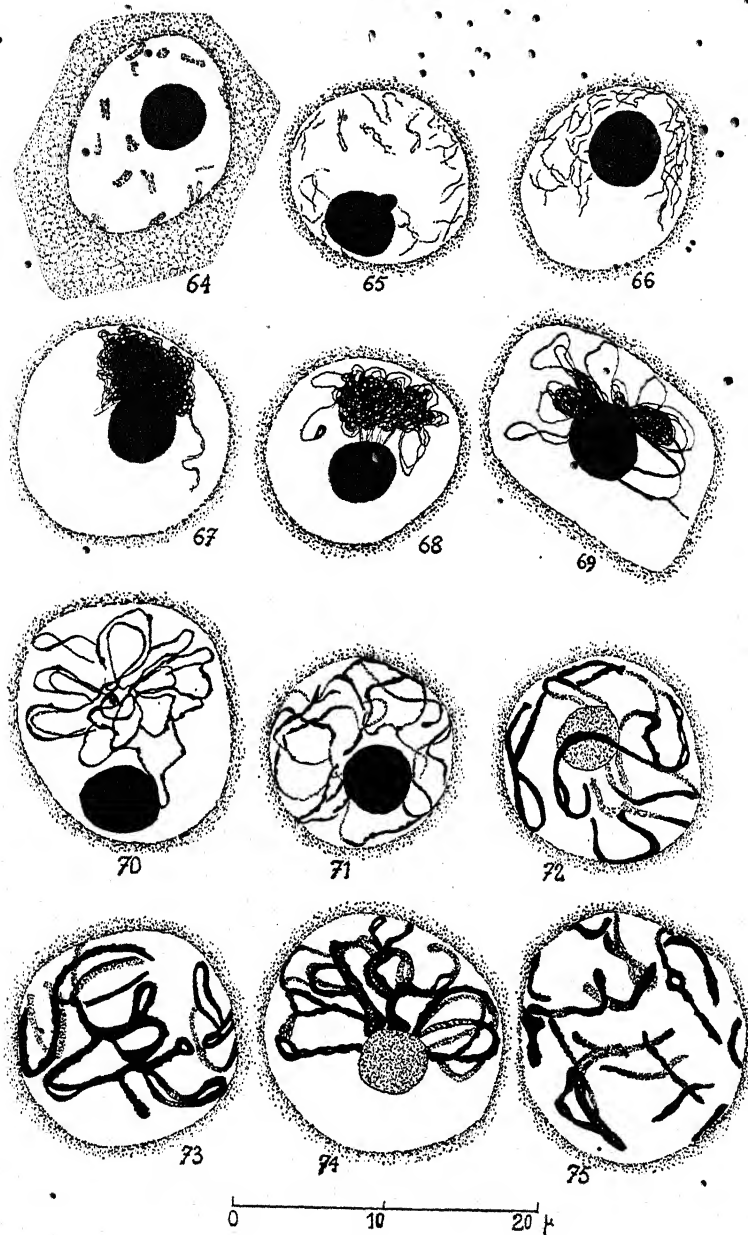


FIG. 64 à 75 :

64 : Le noyau a l'aspect d'un noyau somatique interphasique, mais les corpuscules chromatiques sont doubles.

65 : Zygotène; 66 : synapsis; 67-68 : synizesis; 70-71-72 : spirème; 74-75 : pachytène.

Les filaments des noyaux 72 à 75 montrent souvent une dualité très nette.

extrémités de chaque boucle s'écartent l'une de l'autre. Ce processus finit par déterminer la formation de cordons chromatiques plus ou moins rectilignes (fig. 75). Il est possible de reconnaître encore, dans certains de ces cordons, une zone longitudinale médiane plus claire que les régions latérales. Dans la fig. 75 l'un d'entre eux se distingue nettement des autres par une grosse ouverture dans sa région moyenne.

PROMÉTAPHASE. — 1^{er} temps. — Tout comme dans le cas des mitoses somatiques ces longues traînées chromatiques précédentes conduisent à des masses très fortement condensées, présentant un étranglement très apparent. La question des dimensions mise à part, il est difficile de ne pas être frappé par la ressemblance qui existe entre les corps étranglés de la figure 76 et ceux décrits chez le noyau somatique. La seule différence porte sur les traînées achromatiques doubles dans le premier cas, simples dans les autres. C'est là, semble-t-il, un fait important, car il nous prouve sans ambiguïté la valeur double de ces corps.

Ces faits ainsi analysés, les processus qui donnent d'abord les chromosomes, puis les gemini, deviennent très faciles à suivre.

2^e temps. — En effet, chaque masse chromatique va se dédoubler longitudinalement, simulant ainsi un clivage somatique (fig. 77). Aucun synchronisme ne se manifeste entre les différentes dissociations : certaines figures présentent des chromosomes doubles avec des éléments voisins parallèles entre eux, à côté de corps étranglés offrant seulement un début d'alvéolisation dans leurs parties distales. Dans la figure 78 certains constituants voisins sont déjà disposés en 8 à côté d'autres où la séparation est en train de s'amorcer.

Lorsque le contact des chromosomes s'est relâché, les deux éléments d'une même paire peuvent s'associer très différemment : en 8, en tenaille, en anneau, en V.

Dans des noyaux complets nous avons pu compter 20 paires de chromosomes. C'est encore à ce stade que certains chromosomes montrent, réellement cette fois, un *clivage longitudinal* (fig. 79). Après une contraction ultérieure, ces traces de clivage disparaissent, pour réapparaître, sporadiquement, au moment qui précède celui de la disposition des gemini en plaque équatoriale.

Ce deuxième temps de la prométaphase paraît le plus long de tous les stades prophasiques.

3^e temps. — A l'aspect polymorphe des paires précédentes, fait suite un stade où les chromosomes se contractent énormément jusqu'à prendre l'allure d'haltères. La répartition deux par deux des chromosomes n'a pas varié, mais l'attraction qui existait entre eux s'est fortement atténuée.

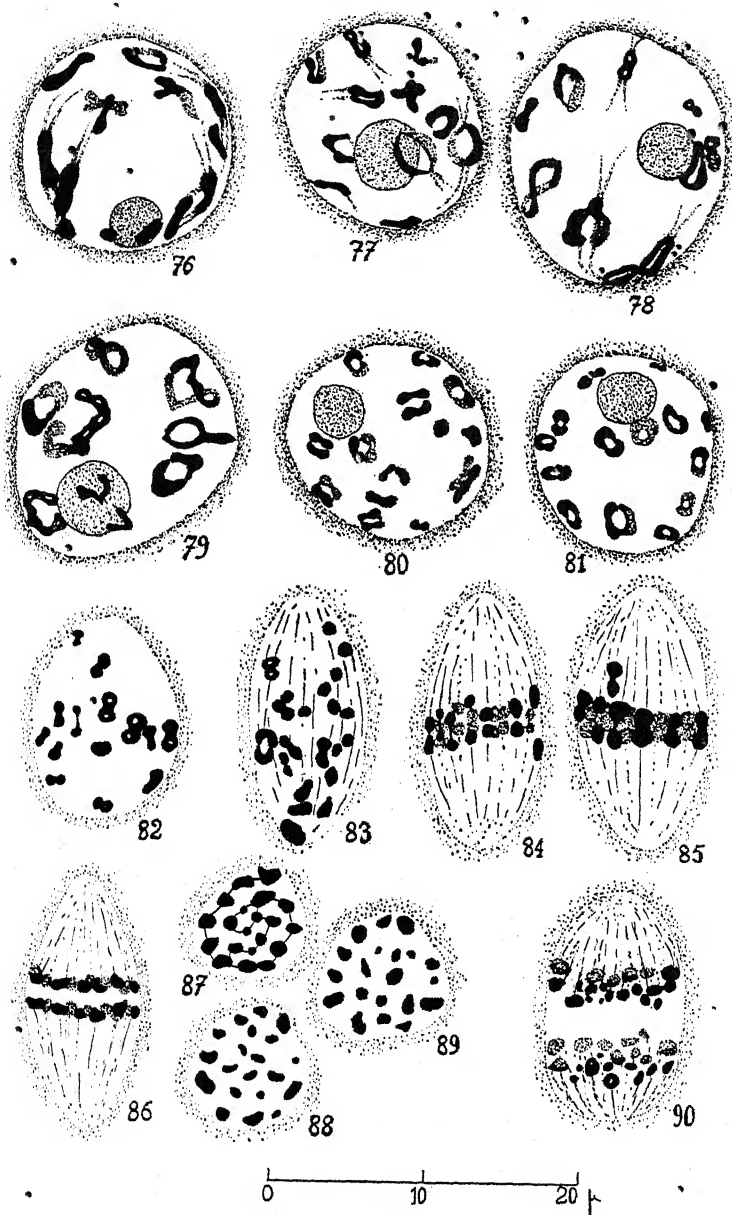


FIG. 76 à 90.

- 76 : Condensation extrême des cordons du stade pachytène. Les masses chroma- tiques, étranglées, se prolongent par des traînées achromatiques doubles.
 77 : Les corps précédents se dissocient.
 78-79 : Strepnisme. Les chromosomes de certains couples sont clivés.
 80-81 : Diacinèses.
 82-84 : Formation du fuseau.
 85 : Un gémus ne subit pas la disjonction anaphasique.
 86 et 90 : Anaphases.
 87-89 : Plaques équatoriales.

Chaque haltère se repliant alors sur elle-même (1), les deux parties renflées terminales se rapprochent progressivement l'une de l'autre (fig. 81). On obtient ainsi des *geminis* qui tendent à prendre leur forme définitive.

1^{er} temps. — La figure suivante (82) montre, en effet, chaque chromosome devenu punctiforme, soudé intimement à son conjoint. Certains *geminis* présentent nettement à ce stade une petite fenêtre entre les deux chromosomes.

C'est alors que le noyau s'allonge et que le fuseau s'ébauche (fig. 83). Mais ici, et une fois de plus, les affinités qu'ont l'un pour l'autre les chromosomes d'un même *geminus* vont s'affaiblir. On n'a donc plus en général dans la figure 83 de vrais *geminis*, mais des couples de chromosomes dans lesquels les éléments sont plus ou moins distants les uns des autres.

MÉTAPHASE. — Une fois la membrane nucléaire disparue et le fuseau ébauché, les *geminis* quittent tous leur position périphérique pour se rassembler à l'équateur du fuseau. Ce rassemblement paraît assez lent. Il semble qu'au moment où les chromosomes sont parvenus à l'équateur l'association des deux parties de chaque *geminus* redevient intime.

Le temps qui caractérise la métaphase, au sens strict du mot, dure relativement peu. On ne tarde pas, en effet, à assister au début de la dissociation anaphasique.

Cette dissociation se réalise dans un ordre parfait. La numération des chromosomes peut indifféremment se faire sur les plaques anaphasiques ou métaphasiques vues d'un des pôles. Dans les deux cas on peut compter avec la plus grande facilité 20 chromosomes. Ces plaques, ont, d'autre part, la particularité de se présenter toujours sous un même aspect (une autre vérification sera apportée par les plaques homéotypiques : microphotographie 2). Un rapide coup d'œil sur les figures 87, 88, 89, prises indistinctement entre plus d'une cinquantaine d'autres, permettra de reconnaître assez facilement une disposition plus ou moins spiralée. Dans des préparations insuffisamment régrossées, les chromosomes sont placés assez régulièrement les uns à la suite des autres et reliés par un mince cordon faiblement basophile. Ce fait paraît important, car dans des noyaux de diacinese (fig. 105) où l'équipement chromosomique était au complet, nous avons également rencontré des *geminis* reliés les uns aux autres. La question du fixateur ne peut intervenir, puisque les liqueurs Helly et Bataillon ont montré les mêmes particularités.

Sans nous étendre plus longuement sur ce caractère, il est peut-être intéressant de le rapprocher des observations de divers auteurs qui

(1) Mouvement analogue à celui d'un pouce et d'un index qui se rapprocheraient l'un de l'autre.

veulent voir en métaphase des chromosomes en chapelet disposés sur deux spirales superposées (REED, 1914; LENOIR, 1926). Ce fait impliquerait cependant une destruction de la spirale en interphase; car, s'il est possible de reconnaître dans nos plaques équatoriales 10 ou 11 gros éléments, 6 ou 7 moyens et 3 autres nettement plus petits, l'ordre de ces divers chromosomes est essentiellement variable. Il s'ensuit donc que si l'on admet la pérennité du chromosome lui-même, la spirale, elle, ne serait que provisoire. Ce qui serait du reste en harmonie avec ce que nous montrent les débuts de prophase.

ANAPHASE. — Sauf pour certaines paires qui passent, sans se dissocier, à un pôle, l'ascension polaire se fait très régulièrement pour les autres chromosomes et chaque petit corps conservera son indépendance jusqu'au terme de la translation. Il n'y a donc pas le tassement polaire décrit dans d'autres matériels et qui vient gêner l'étude du devenir des chromosomes télophasiques.

Les régions polaires présentant d'autre part la faculté de se dilater en quelque sorte, offrent, avec les progrès de la cinèse, l'aspect de deux calottes (fig. 90) dont les parties tronquées contiennent les chromosomes.

Enfin, certains de ces derniers possèdent dans leur partie centrale une alvéole très nette.

TÉLOPHASE. — Le passage des chromosomes de l'anaphase à la télophase doit se faire très rapidement si l'on considère l'extrême rareté des figures intermédiaires. Sitôt leur arrivée aux pôles, une membrane nucléaire s'organise, contre laquelle vont se loger les chromosomes. Des gouttes nucléoliniennes apparaissent qui se disposent plus ou moins symétriquement dans les deux noyaux, tandis que chaque corps chromatique se déploie pour reprendre la forme en haltère qui le caractérisait en prométaphase (fig. 91).

LA DIVISION HOMÉOTYPIQUE

L'intercinèse dure peu, car avec la télophase hétérotypique commence la prophase homéotypique. Les processus qui conduisent à la formation des fuseaux homéotypiques sont à un tel point accélérés que, parfois, dans un même sac pollinique, en coupe longitudinale, on peut rencontrer à une extrémité des noyaux télophasiques hétérotypiques et à l'autre des télophases homéotypiques en passant par tous les stades intermédiaires.

Contrairement à ce qui se passe dans une cinèse somatique normale, après le clivage (1), les chromosomes deviennent le siège d'une condensation très accentuée. Si bien que le terme final est pour chaque paire

(1) En réalité, il s'agit ici d'une séparation de chromosomes puisque le clivage a eu lieu en prophase.

une forme en biscuit (fig. 93). Il y a donc une différence morphologique entre les chromosomes homéotypique et somatique.

Il importe, en passant, de noter les nombreuses fois où cette forme en biscuit s'est offerte à nous, et toujours avec une valeur nouvelle.

Le rassemblement, en plaque équatoriale, de tous les corps étrangers, nécessiterait ici une description analogue à celle de la première division. Il est encore possible de rencontrer des paires qui ne se dissocient pas (fig. 96) et même, ce qui est plus curieux, des gemini non dissociés de la première division peuvent être retrouvés ici avec tous leurs caractères originels. Ils ne subissent aucune modification et passent directement dans un des quatre noyaux homéotypiques. La réaction de Feulgen est positive pour ces gemini. On ne peut donc les prendre pour des fragments de nucléoles.

MÉTAPHASE. — Les positions respectives des deux fuseaux homéotypiques sont très variables : rigoureusement perpendiculaires entre eux dans certains cas, ils peuvent, dans d'autres, se présenter parallèlement. Toutes les positions intermédiaires existent.

D'après l'examen d'un grand nombre de préparations, nous avons cru remarquer qu'en général la valeur de l'angle que font entre eux les fuseaux, est conditionnée par la forme de la cellule. C'est ainsi que des fuseaux perpendiculaires entre eux se rencontrent toujours dans des cellules à contour nettement arrondi. Exceptionnellement deux fuseaux parallèles peuvent ne pas être dans des cellules très étirées. Le cas de la figure 96 représenterait ainsi une exception.

Quoi qu'il en soit, ces fuseaux parallèles, bien que très rares, représentent un double avantage. Ils peuvent nous montrer de la manière la plus indiscutable si, dans une même cellule, la non-disjonction peut intéresser simultanément des éléments des deux plaques équatoriales. D'autre part, en admettant qu'aucune soudure n'intervient entre les chromosomes, et que le plan de la coupe est perpendiculaire à celui des deux fuseaux, ils permettent de vérifier, en toute certitude, le nombre des chromosomes. Ces contre-épreuves nous permettent donc d'envisager le nombre haploïde de 20 chromosomes comme une certitude.

A côté des fuseaux bipolaires normaux, nous avons parfois rencontré des fuseaux tripolaires. Bien que ces dernières formations se soient présentées dans des cellules-mères polliniques fixées à la liqueur de Bataillon, nous ne pensons pas qu'il s'agisse là d'un artefact. Car, alors, il faudrait donner la raison pour laquelle le second fuseau (la plaque équatoriale, dans la figure 97) est normal. Notre plante n'étant pas un hybride, il s'agirait donc là d'une anomalie susceptible d'engendrer des microspores à nombre de chromosomes aberrant.

Cependant, le fait que de telles formes sont d'une rareté extrême (3 cas sur plusieurs centaines de fuseaux) ne permet de leur accorder qu'un intérêt purement théorique.

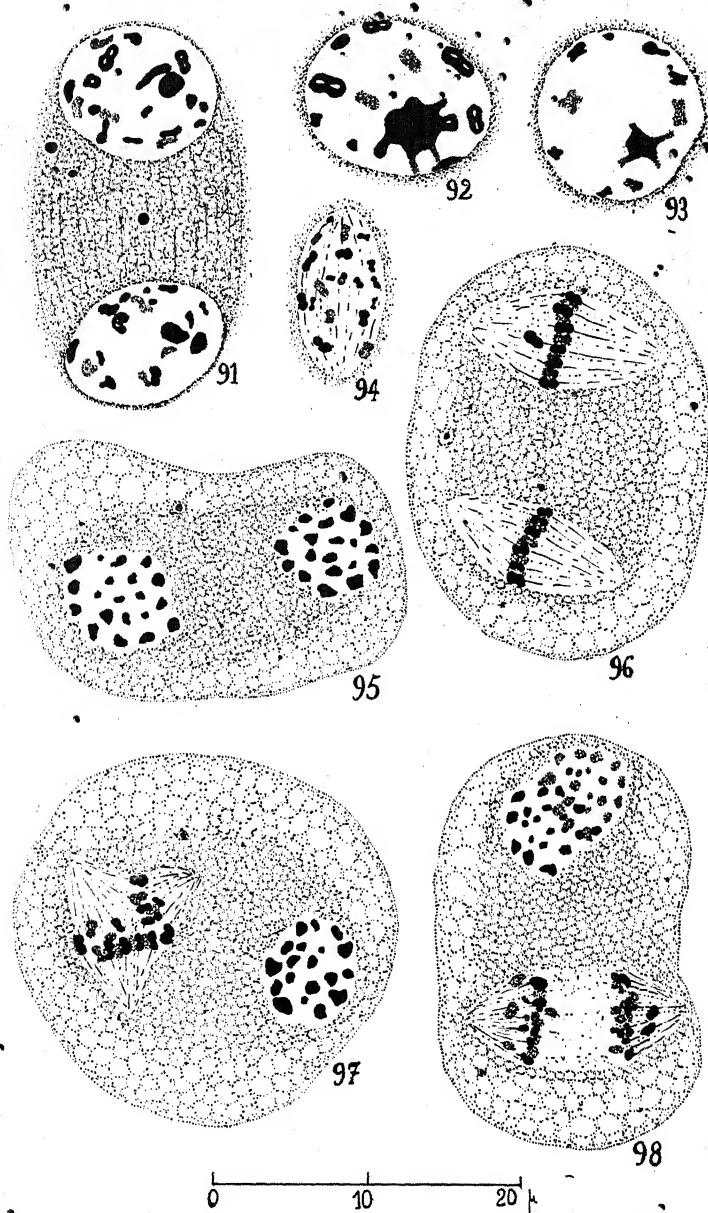


FIG. 91 à 98 : Diverses phases de la mitose homéotypique.

92-93 : Les deux masses volumineuses sont des ébauches de nucléole en relation avec les chromosomes.

91-92 : Certains chromosomes se clivent.

94 : Fuseau homéotypique en formation.

95 : Deux plaques équatoriales vues de face.

96 : L'un des fuseaux porte une paire de chromosomes non disjoints.

97 : L'un des fuseaux est tripolaire, la distribution des chromosomes y est aberrante.

98 : Anaphases.

ANAPHASE. — La dissociation anaphasique est normale et se présente en tous points comme celle de la division hétérotypique. Nous ne nous y attarderons pas.

TÉLOPHASE. — Un seul caractère mérite ici de retenir l'attention. On a vu dans ce qui précède que certains gemini non dissociés se rendent aux pôles avant les chromosomes simples anaphasiques. Nous aurions pu également mentionner qu'au cours de l'anaphase hétérotypique un geminus reste parfois à l'équateur avec ses deux éléments fortement unis. En raison du passage rapide des chromosomes, de la métaphase à la télophase, nous n'avons pu suivre dans le détail le devenir de cet élément double (Feulgen positif).

Par contre, dans la deuxième cinèse, ce passage paraissant moins rapide, il est assez aisé de rencontrer, entre les deux plaques télophasiques, deux chromosomes nettement en retard sur les autres (fig. 99 et microphotographie 3). Y aurait-il une relation entre ces derniers et le geminus précédent? Il est certain que ces chromosomes ne sont pas

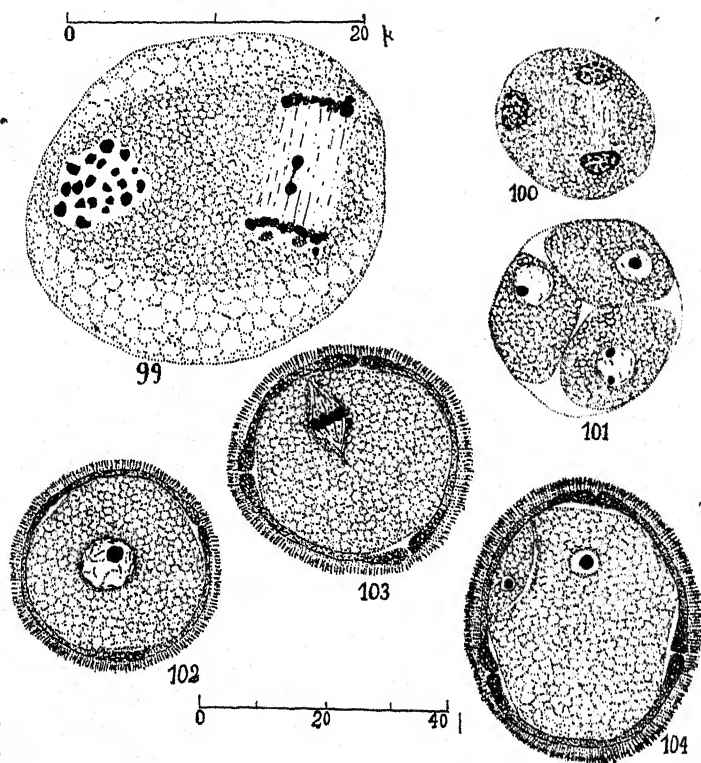


FIG. 99 à 104 :

En 99 une paire de chromosomes a subi un retard de dissociation.
De 100 à 104 : formation de la microspore.

abandonnés dans le cytoplasme, car la fuchsiné basique ne les y a jamais mis en évidence.

L'ÉVOLUTION DU GRAIN DE POLLEN.

La deuxième cinèse réductrice achevée, quatre noyaux relativement petits se constituent. Des membranes se dessinent progressivement à partir du centre, qui divisent la cellule-mère en quatre cellules filles.

La croissance du grain de pollen devient alors très rapide. Le protoplasme, très dense, augmente rapidement de volume, tandis qu'à la périphérie deux membranes se forment : premières ébauches de l'exine et de l'intine.

La membrane externe, perforée généralement de trois pores, se caractérise par la différenciation, dans son épaisseur, de fines stries radiales, reliées les unes aux autres de façon à présenter, à la maturité de l'élément, un aspect gaufré en nids d'abeille.

L'intine, plus homogène, sera plus tard notablement plus épaissie en trois régions. Ces trois petites calottes, percées d'une ouverture centrale, montreront, en coupe, trois solutions de continuité correspondant aux pores.

Le noyau du grain de pollen, après une augmentation très sensible de son volume, demeure assez longtemps stationnaire. C'est seulement lorsque le grain atteint sa taille définitive et qu'il est sur le point d'être disséminé que son noyau se divise pour fournir les noyaux reproducteur et germinatif. Le premier des deux, très petit, est rejeté d'abord (fig. 104) contre l'intine où une membrane en verre de montre, à peine visible, l'isole de la masse cytoplasmique principale.

Un peu avant la déhiscence de l'anthère le petit noyau quitte sa position excentrique pour se rapprocher du noyau végétatif. C'est dans cet état que le grain de pollen est disséminé.

Dans le cas du pollen provenant d'une fleur fonctionnellement femelle, les deux noyaux perdent leur aspect morphologique normal pour devenir deux masses pycnotiques, uniformément colorées en noir par l'hématoxyline. Le plus petit des deux éléments a, invariablement, une forme de lentille bi-concave (fig. 141).

Par la suite ces deux noyaux se détruisent et une cytolyse fait suite à la caryolyse. Le pollen d'une pareille fleur est donc finalement constitué par des enveloppes vides. Dans une fleur hermaphrodite le grain de pollen conserve jusqu'à la déhiscence de l'anthère la structure normale décrite plus haut.

Enfin, dans certains boutons floraux très jeunes (fixés sans aucun choix, puisqu'ils sont tous identiques) une dégénérescence frappe de bonne heure les cellules-mères du pollen. Nous avons constaté une telle destruction, généralisée à toutes les cellules-mères polliniques d'une même fleur, avant même que les noyaux eussent atteint les premiers stades de la prophase hétérotypique.

b). — Étude de la *macrosporangénèse*.

OBSERVATIONS GÉNÉRALES.

L'évolution cytologique de l'ovule nous contraint à faire une distinction entre les organes appartenant à des ovaires normaux et ceux destinés à régresser avec les ovaires qui les contiennent. Les particularités cytologiques, dans ce dernier cas, ne manquent pas de singularité, ainsi que nous le verrons plus loin.

En raison de la présence, après l'épanouissement de la fleur, d'une enveloppe carpellaire se laissant très difficilement imprégner par la paraffine, nous avons été obligé d'isoler les ovules des carpelles et de les enrober, tout comme nous l'avons fait pour les très jeunes boutons floraux, dans de la gélose.

Cette méthode, très simple, permettant une orientation précise des petits organes dans le bloc de gélose puis dans celui de paraffine nous a permis de suivre dans tous leurs détails les progrès de l'évolution de l'ovule.

Les matériels Bataillon-hématoxyline, Helly-hématoxyline, Helly-Feulgen ont été débités en coupe de 6 à 20 μ , passant, en général par le plan de symétrie de l'ovule.

L'observation d'un jeune ovule, au moment où il commence à se recourber, laisse voir à son extrémité et immédiatement sous l'épiderme une cellule plus développée que les autres : c'est la cellule-mère primordiale du sac embryonnaire. Cet élément ne tarde pas à se diviser pour donner la cellule de la calotte et la cellule-mère du sac embryonnaire, laquelle, par prolifération très active de la première, est rapidement refoulée au centre du nucelle. C'est alors que l'on peut assister à l'accroissement, relativement lent, du volume du noyau de cette dernière cellule.

LA MITOSE HÉTÉROTYPIQUE.

Nous ne recommencerons pas ici la description de la prophase hétérotypique. Il suffit de se rapporter à celle donnée pour l'étude de la microsporangénèse. Les phénomènes sont en effet absolument identiques de part et d'autre.

La prométaphase aboutit donc à un noyau diacinétique (fig. 105) qui, lui-même, conduit à la métaphase. Rien de particulier à signaler dans cette métaphase, sinon que le fuseau achromatique peut se disposer longitudinalement (c'est le cas le plus général) dans le sens de l'allongement du nucelle, ou bien prendre une position perpendiculaire à l'axe de ce nucelle. Il y a donc là des positions, faciles à prévoir, pour les fuseaux homéotypiques.

Il est encore possible de voir sur certains fuseaux hétérotypiques, des *gemi* non dissociés (Feulgen positifs) passer à un même pôle.

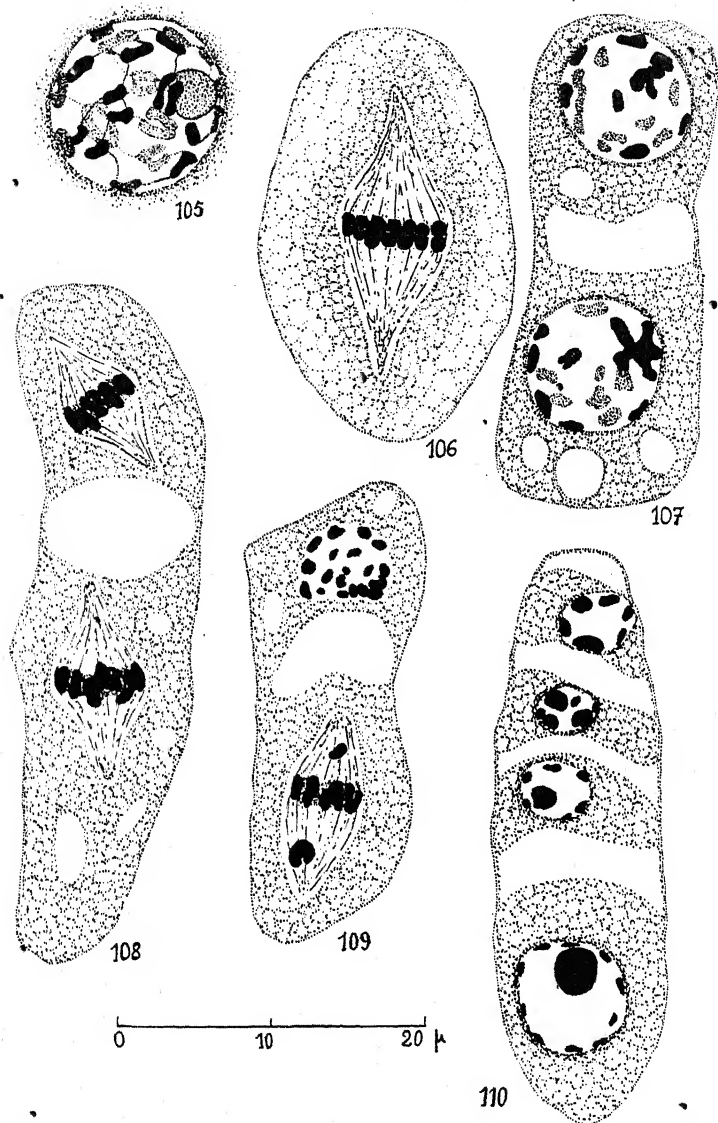


FIG. 105 à 110. — Différenciation de la macropore.

De 105 à 107 : Divisions hétérotypiques.

De 108 à 110 : Divisions homéotypiques.

109 : Le fuseau porte des chromosomes en « précession ».

110 : Trois des macropores dégénèrent, la quatrième, située du côté de la chalaze, donnera le prothalle femelle.

Dans plusieurs préparations, le gémus était dirigé vers la base du nucelle. Nous ne voulons cependant pas accorder à ce fait une importance autre que celle d'une curieuse coïncidence.

Le passage des chromosomes, de l'équateur aux pôles, doit se réaliser avec une extrême rapidité, si l'on considère l'impossibilité où nous nous sommes trouvé de rencontrer une seule anaphase typique dans près de cinquante figures cinétiques.

Dès leur arrivée aux pôles, les chromosomes s'écartent notablement les uns des autres. Une membrane nucléaire apparaît alors rapidement, contre laquelle vont se loger toutes les petites masses chromatiques. Les noyaux-fils s'individualisent peu. Il est rarement possible d'y rencontrer des taches nucléolaires bien différenciées; le plus souvent (fig. 107) ces taches paraissent simplement représentées par des groupements symétriques de chromosomes sur lesquels se condenserait la nucléoline.

MITOSE HOMÉOTYPIQUE

Ici, comme dans le cas du pollen, la prophase homéotypique se confond presque avec la télophase de la première cinèse. Très rapidement donc les deux fuseaux homéotypiques se constituent. Selon les deux positions que peut prendre le fuseau de la première cinèse, ceux de la seconde division vont, ou bien se superposer selon l'axe du nucelle (fig. 108), ou bien se placer côte à côte parallèlement à cet axe, ou bien enfin, le fuseau chalazien pourra rester dans l'axe du nucelle et l'autre lui être perpendiculaire.

Ce dernier cas se rencontre généralement dans des nucelles sub-sphériques (fig. 109). La figure 109 montre, en outre, très clairement, sur le fuseau vu de profil, des chromosomes en « précession ». L'un deux, nettement double, est dans la direction de la chalaze. La plaque supérieure, comme conséquence de cette anomalie, ne porte que 19 chromosomes. Il y a là, semble-t-il, une preuve de plus de la régularité avec laquelle se réalise le phénomène de la non-disjonction.

Malgré le peu de netteté de la microphotographie 7, il est encore possible de voir sur le fuseau homéotypique (l'autre se trouve dans une coupe voisine), deux chromosomes précéder les autres dans l'ascension aux pôles (1). Comme ce sont des éléments simples, mais plus gros toutefois que ceux provenant d'une dissociation anaphasique homéotypique, il faudrait admettre qu'ici un gémus (de la première cinèse) s'est dissocié, mais que ses deux constituants sont toujours en avance sur les autres.

(1) Nous n'avons pu trouver de pareilles figures dans des coupes colorées pas la réaction de Feulgen. Cependant comme le nucléole n'a pas le temps de se former en télophase hétérotypique, nous sommes donc bien fondé à considérer ces masses polaires comme des chromosomes.

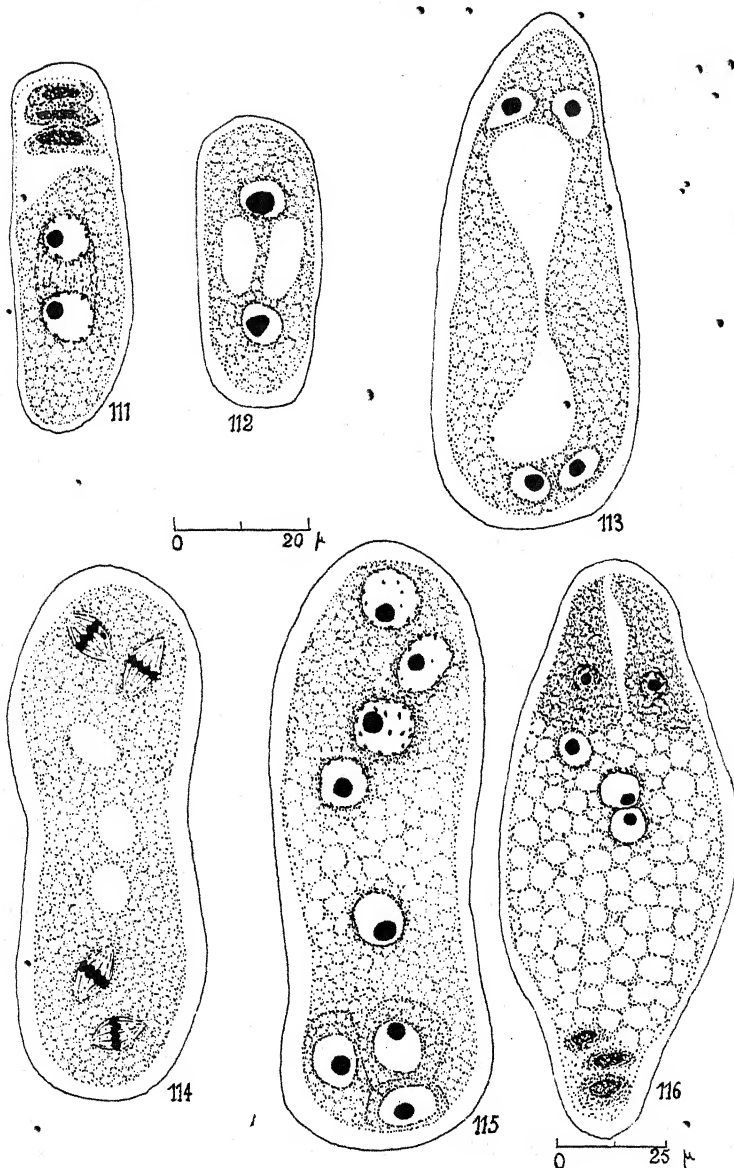


FIG. 111 à 116. — Différenciation du prothalle femelle. En 116 les antipodes dégèrent, tandis que les noyaux polaires se juxtaposent simplement au centre du sac sans se fusionner.

Quelles que soient les modalités propres à ces cinèses réductrices le résultat est toujours la formation de quatre macrospores de même valeur évolutive ou non (fig. 100). De ces cellules, une seule (la plus éloignée du micropyle) l'emportera sur les autres pour devenir la cellule-mère secondaire du sac embryonnaire.

Très rapidement, le noyau de cette cellule-mère se divise pour donner deux, puis quatre, puis enfin huit noyaux (fig. 111-116). Parallèlement à cette activité nucléaire, le volume du sac augmente dans des proportions relativement considérables.

La masse protoplasmique qui reste assez homogène, au début, en dépit de quelques grosses vacuoles, devient avec les derniers stades très fortement réticulée.

A partir des huit noyaux précédents, se différencient d'abord les trois antipodes, puis les deux synergides. Celles-ci s'allongent d'une façon très notable (fig. 116) et demeurent encore quelque temps après la fécondation. Par contre, les antipodes dégèrent très rapidement après leur différenciation. Le noyau de l'oosphère ne s'isole jamais, à la manière des synergides, de la masse protoplasmique principale. Représenté dans la figure 95 par le corps nucléaire à nombreux euchromocentres, il devient, par la suite, très homogène et reste toujours au voisinage des synergides.

Quant aux deux noyaux polaires, ils se rapprochent progressivement l'un de l'autre, et finissent par se rencontrer dans la région moyenne du sac. Jusqu'au moment de la fécondation, on ne peut assister à aucune fusion de ces éléments.

LA FÉCONDATION

Arrivé au niveau du placenta, le tube pollinique suit rigoureusement la base du funicule, puis s'engage dans le canal micropylaire. La régularité avec laquelle il pénètre dans ce canal dont l'ouverture correspond à peu près exactement à son diamètre, est remarquable. A ce stade, le tube pollinique montre toujours dans son intérieur deux petits corps (fig. 117) plus ou moins fortement contractés correspondant aux deux spermatozoïdes. Ces derniers sont libérés, d'une manière constante, au niveau de l'extrémité des synergides (fig. 118), cellules qui jouent vraisemblablement un rôle important dans leur progression vers l'oosphère et les deux noyaux centraux.

Il ressort de l'observation d'un grand nombre de préparations que les deux noyaux qui, dans beaucoup d'autres plantes, se fusionnent pour donner le noyau secondaire, gardent ici leur individualité jusqu'à l'approche du spermatozoïde. Assez souvent même nous avons pu constater l'accolement des deux noyaux polaires avec celui du gamète mâle; les trois nucléoles demeurant également indépendants les uns des autres. Que se passe-t-il par la suite? Malgré la multiplicité de nos

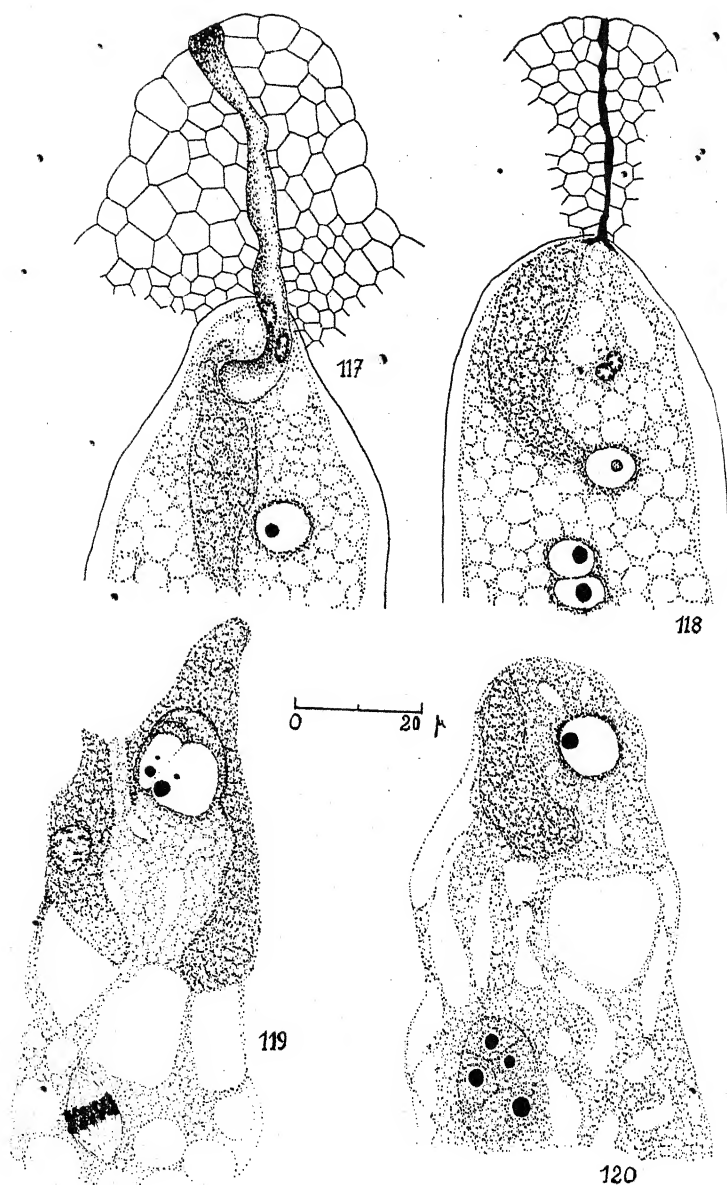


FIG. 117-120. — Divers stades de la fécondation. En 120 le zygote est seulement formé, tandis que le noyau de l'albumen a subi déjà plusieurs divisions.

préparations, nous n'avons pu nous rendre compte s'il y avait fusion simultanée des trois noyaux en présence.

Il est d'ailleurs très difficile, à ce stade, d'obtenir une coloration satisfaisante du noyau et encore moins du nucléole.

Quoi qu'il en soit, peu après la libération des spermatozoïdes dans le sac embryonnaire, le premier noyau du futur albumen est formé et ne tarde pas à entrer en division (fig. 119).

Par contre, le spermatozoïde destiné à la fécondation de l'oosphère demeure assez longtemps contre ce dernier noyau et accroît notablement ses dimensions. C'est seulement au moment où le noyau de l'albumen entre en activité que la fécondation de l'œuf a lieu (fig. 119).

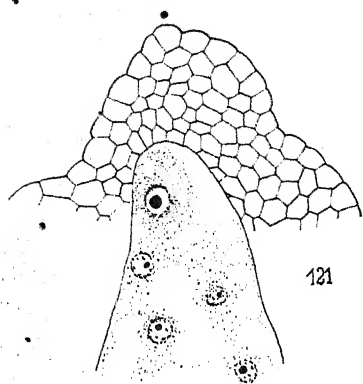
En raison des phénomènes de non-disjonction que nous avons relatés dans un grand nombre de cinèses réductrices, il était intéressant de bien analyser les deux gamètes au moment de la formation du zygote. Malheureusement la très faible chromophilie de ces éléments ne permet aucune considération de cette nature. Les nucléoles eux-mêmes, toujours très petits, se voient souvent avec beaucoup de peine.

L'EMBRYOGÉNÈSE.

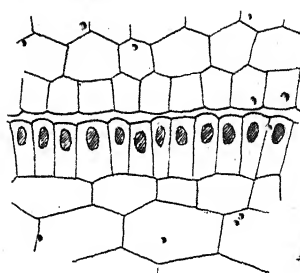
Le zygote demeure pendant longtemps indivis et se loge dans une encoche du nucelle, dans la partie micropylaire de celui-ci (fig. 121). Le noyau de l'albumen qui se multiplie, au contraire, très activement donne naissance à un petit massif central (fig. 120) dont les éléments se séparent ensuite les uns des autres (fig. 121) pour se rendre dans les régions périphériques du sac. C'est à ce moment que l'œuf fécondé commence à se multiplier lui aussi. Les fuseaux des premières cinèses, pouvant s'orienter dans les trois directions de l'espace, le massif cellulaire bientôt engendré n'offrira donc pas de différenciations morphologiques très nettes. C'est en d'autres termes un embryon sans suspenseur qui s'ébauche (fig. 123). Cet embryon demeure solidement fixé dans l'encoche nucellaire dont le plafond, en forme de dôme, présente des cellules à membranes plus ou moins fortement lignifiées.

Lorsque la graine a atteint 5 mm. de largeur sur 7 mm. de longueur, l'embryon, très petit, piriforme, présentant en coupe longitudinale une quarantaine de cellules, ne montre pas encore de formations cotylédonnaires. Comme la semence mûre ne dépasse pas 8 mm. de diamètre environ, on voit que les cotylédons n'apparaissent que très tardivement.

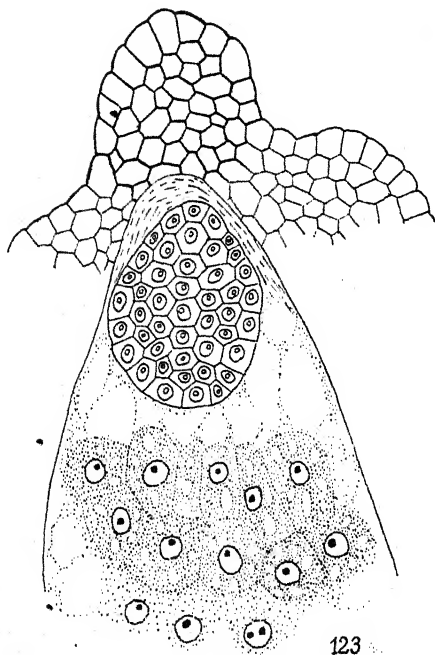
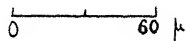
La fragmentation, en cellules d'albumen, de la gelée qui remplit la cavité du sac embryonnaire, s'effectue très lentement. Le processus se réalise d'abord dans la région péri-embryonnaire (fig. 123) pour gagner ensuite progressivement le pôle opposé. Une fixation au formol, suivie d'une autre à l'acide osmique, permet de suivre très aisément les progrès de la formation, dans les cellules de l'albumen, des enclaves hydrocarbonées et lipidiques.



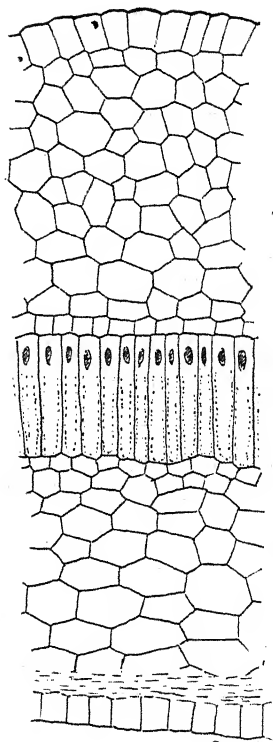
121



122



123



124

FIG. 121. — Les noyaux de l'albumen sont nombreux; le zygote ne s'est pas encore divisé.

FIG. 123. — L'embryon est ébauché; il n'a pas de suspenseur.

FIG. 122 et 124. — L'épiderme externe de la secondine se différencie en une assise palissadique.

LE NUCELLE DES FLEURS UNISEXUEES.

Tous les jeunes boutons floraux sont hermaphrodites et leurs ovaires peuvent tous produire les premières ébauches ovulaires.

Or, si les phénomènes successifs ultérieurs (accroissement des carpelles, apparition de la cellule-mère du sac embryonnaire, différenciation du prothalle femelle, fécondation de l'oosphère, développement des ovules en graines) se déroulent normalement, comme nous venons de le voir, chez certains ovaires, il n'en est pas de même pour d'autres. Ceux-ci, en effet, à un stade plus ou moins avancé de leur développement et pour des raisons difficiles à préciser, subissent dans leurs différents tissus une histolyse très caractéristique : apparition de noyaux pycnotiques et liquéfaction du cytoplasme, puis enfin disparition totale du contenu cellulaire. Seules les diverses membranes cellulaires demeurent pendant un temps assez long. Cette histolyse frappant de même les tissus de l'ovule commence à se manifester au niveau du funicule, pour gagner ensuite, progressivement, toutes les autres parties. La cellule-mère du sac embryonnaire est le dernier élément qui disparaît.

Cette cellule, en effet, presque toujours différenciée au moment où commence la destruction des tissus somatiques, semble douée d'une vitalité extraordinaire. Selon la précocité et l'intensité des processus histologiques, elle peut ou bien s'accroître dans des proportions considérables pour donner une cellule géante (microphotographie 8), ou bien, au contraire, son noyau peut subir quelques divisions pour former une ébauche de prothalle (microphotographie 9). Ce dernier, toujours hypertrophié par rapport à un prothalle normal, peut dans quelques rares cas présenter les huit noyaux typiques d'un sac embryonnaire. Le nombre des noyaux le plus communément observé dans ces formations abortives est de quatre. Ils sont groupés deux par deux aux pôles du sac.

Nous n'avons pu nous rendre compte si la multiplication des noyaux de ces prothalles se fait par division directe ou non. L'accroissement parfois très étroit de certains noyaux voisins pourrait faire admettre l'existence d'amitoses.

Le stade ultime de ces ovules, après la digestion complète des résidus nucellaires par le sac hypertrophié, est la disparition du sac lui-même. Le protoplasme, abondamment vacuolisé, se réduit alors à quelques fines travées, les noyaux dégénèrent en boules chromatiques, le nucelle est dès lors entièrement détruit.

Il n'est pas possible de saisir un moment précis où commence l'histolyse précédente; elle se manifeste toujours avant la différenciation complète et normale du prothalle femelle.

Le fait que la cellule-mère du sac ou le prothalle femelle tout entier sont les derniers éléments nucellaires qui disparaissent pour-

rait exclure l'hypothèse d'une cause cytologique de l'avortement de ces ovaires. Apparemment, des raisons d'ordre physiologique seules semblent en cause. C'est ce que pense Nyi (1929). En se basant sur l'histologie du pistil, l'auteur est convaincu que les ovules avortent dans certains ovaires parce que les carpelles n'ont pas de faisceaux libéroligneux marginaux (question de nutrition). Nous croyons l'explication trop simpliste pour les raisons suivantes :

1° S'il est évident que dans les boutons très jeunes les faisceaux vasculaires ovariens ne sont pas différenciés lors de la dégénérescence précoce de l'ovule, il n'en est pas de même dans d'autres ovaires où la vascularisation est complète, mais où les tissus sont tout aussi bien frappés de mort ;

2° L'histolyse ne débute pas au niveau des parties carpellaires marginales ; elle frappe simultanément tous les tissus ovariens. Nous avons même constaté que les éléments ovulaires se montraient encore plus résistants que les autres. Il y a donc vraisemblablement des causes plus profondes qui président à la disparition de l'ovaire comme elles l'ont fait pour les grains de pollen. Ces causes sont donc inhérentes à l'ovaire lui-même.

3. Études cytologiques sur la fleur de *Dombeya spectabilis*.

a) Observations morphologiques.

Il nous serait difficile de donner une description précise du port d'une plante qui n'existe à Montpellier que dans les serres du Jardin des Plantes. Elle se présente sous la forme d'un arbre de deux à trois mètres de haut dont le tronc plusieurs fois ramifié porte d'assez nombreux rameaux. Les feuilles lobées, bien moins larges et découpées que

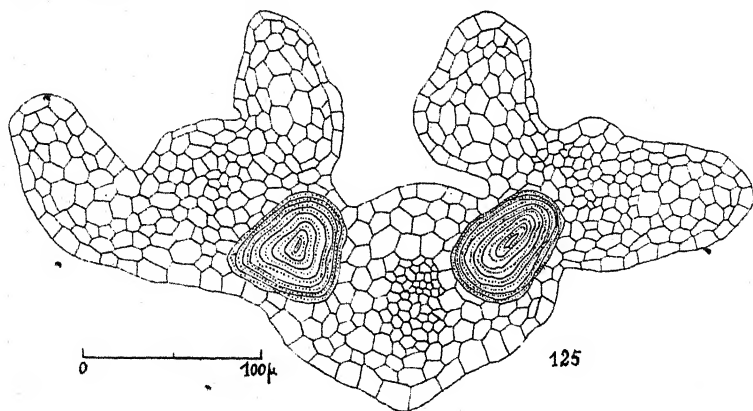


FIG. 125. — Coupe transversale dans l'anthere du *Dombeya spectabilis*. On retrouve ici encore deux grosses poches gommeuses à la limite de séparation des sacs polliniques.

celles du *St. platanifolia*, portent toujours de nombreux poils rougeâtres, étoilés. Des stipules caduques et recouvertes d'un épais duvet de poils existent également à la base pétiole des jeunes feuilles.

A partir du mois de février, les boutons floraux apparaissent au sommet des rameaux les plus élevés. Le rassemblement de plusieurs fleurs pédonculées au sommet d'un pédoncule principal commun donne aux inflorescences la valeur de véritables ombelles.

La fleur hermaphrodite morphologiquement comprend un calice valvaire de cinq pièces jaunâtres, une corolle " dialypétale " blanche à préfloraison tordue, un androcée formé de 15 étamines insérées sur une collerette commune blanche de 3 à 4 mm. de haut et de cinq staminodes, enfin un ovaire composé de quatre ou cinq carpelles surmontés de stigmates libres à leur extrémité.

ANTHÈRE. — Elle est formée de deux demi-anthères plus largement accolées que chez *Sterculia* (fig. 125), à la base desquelles on retrouve une grosse poche mucilagineuse lysigène. L'architecture de l'assise mécanique rappelle à peu de chose près celle de la précédente espèce.

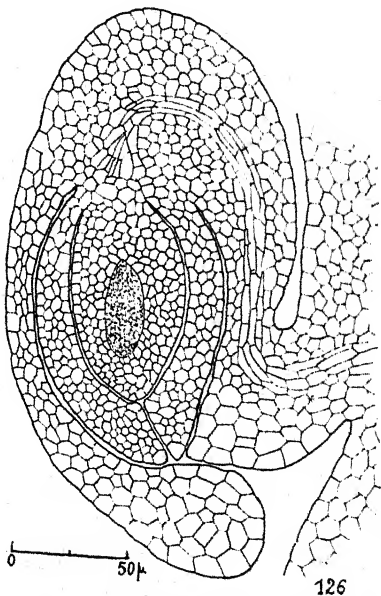


FIG. 126. — Ovule du *Dombeya spectabilis*.

OVAIRE. — Les carpelles, intimement soudés les uns aux autres, affrontent dans l'axe du pistil leurs bords placentaires.

L'ovule anatrope prend naissance sur la région subterminale des lames ovariennes. La différenciation et l'évolution des téguments et du nucelle se produisent comme chez *Sterculia*. Il y a seulement une

différence de position entre les ovules des deux espèces : horizontale chez *St. platanifolia*, elle est oblique chez *Dombeya*. L'ovule du *D. spectabilis* est en effet pendant apotrope; l'allongement du raphé et du nucelle lui donne l'aspect d'un ovule campylotrope (fig. 126). Les morphologistes ont posé comme caractéristique du genre *Dombeya* l'existence de deux ovules par loge carpellaire. Il y en a quatre chez cette espèce. On retrouve ici un des nombreux écarts qui caractérisent ce genre.

Bien avant l'épanouissement de la fleur, les ovules sont colorés en rouge vif par une anthocyane localisée dans les téguments. Au cours du développement de la graine la coloration disparaît progressivement (1).

Après la fécondation, l'ovaire fournit une capsule loculicide en tronc de cône, mesurant 7 à 8 mm. de haut pour un diamètre de base de 10 à 12 mm.

Au cours de l'évolution de l'ovaire en fruit, les "pétales", parcheminés, restent adhérents au fruit.

b) Etude de la microsporogénèse (cellule-mère du pollen).

Longtemps avant l'épanouissement de la fleur, lorsque les organes fertiles forment encore une petite tête de 2 à 3 mm. de diamètre, les noyaux des cellules-mères du pollen subissent les premières transformations qui annoncent la prophase hétérotypique.

Nous avons employé ici les mêmes méthodes de fixation et de coloration que pour le *Sterculia*. Comme la structure et l'évolution générales du noyau sont les mêmes, nous ne reprendrons pas intégralement sa description. Seuls, seront mentionnés les caractères distinctifs de cette nouvelle plante.

PROPHASE. — Avant toute manifestation de l'activité prophasique le noyau des cellules-mères du pollen est homogène. Le nucléole que colore fortement l'hématoxyline ainsi que des granules à peine chromophiles placées contre la membrane nucléaire sont les seuls organites visibles dans le corps achromatique.

Le réactif de Feulgen laisse tout incolore.

Peu après apparaît un réseau qui, cette fois, est formé d'un cordon continu, ramifié, particulièrement net. De nombreux granules chromatiques (nous en avons compté jusqu'à 40) y sont fixés (fig. 127-128). Réseau et granules se comportent vis-à-vis de la fuchsine basique et de l'hématoxyline comme chez le *Sterculia*. Seuls les granules sont fuchsinophiles.

(1) Chez un hybride de ce *Dombeya* (*D. spectabilis* × *D. cayenxi*) l'anthocyane n'existe plus.

Les stades de synapsis et de pachytène ne montrent rien de bien particulier. En prométaphase certains noyaux diacinetiques se présentent souvent avec une grande netteté. Les gemini échelonnés contre la membrane et, quelquefois bien distants les uns des autres, permettent de compter 23 paires de chromosomes.

MÉTAPHASE. — Malgré une quantité innombrable de métaphases hétérotypiques que nous eûmes sous les yeux, nous ne pûmes, dans aucune d'entre elles, dénombrer avec certitude les chromosomes. Ces derniers se colorent en rouge vif par le réactif de Feulgen, mais ils sont malheureusement très rapprochés les uns des autres, surtout au centre des plaques où ils se groupent en petits chapelets dans lesquels il est bien difficile de compter les grains. Les plaques équatoriales les plus nettes nous ont fourni des nombres variant entre 19 et 23 chromosomes.

ANAPHASE. — Ce stade extrêmement rare dans les préparations ne permet pas davantage une numération précise des chromosomes. Colorés par l'hématoxyline, certains chromosomes paraissent gonflés; la fuchsine basique ne révélant pas un tel gonflement, il s'agit donc, autour de certains corpuscules, d'un dépôt complètement dépourvu d'acide thymonucléique. Par contre, la substance fusoriale dans laquelle baignent les chromosomes est légèrement fuchsinophile.

TÉLOPHASE. — Ce stade aussi fugace que le précédent, en raison de la rapidité avec laquelle apparaît la membrane nucléaire, est le plus net de toute la mitose. Le résultat des colorations par l'hématoxyline est médiocre en ce sens que tout comme dans l'anaphase, certains chromosomes sont plus ou moins gonflés. De plus, la substance fusoriale est également chromophile. Par contre, la réaction de Feulgen, en ne colorant que les chromosomes, permet d'en compter 23 (fig. 129). Elle montre, de plus, que c'est au cours de cette phase que ces corpuscules sont les plus éloignés les uns des autres. Leur répartition sur le fond d'une calotte qui occupe le sommet du pôle fusorial fait bien comprendre la disposition périphérique qu'ils occupent d'emblée au moment de la formation de la membrane du noyau. D'autre part, il semble évident que la plus grande partie, sinon la totalité, de la substance du nouveau corps achromatique provient de la matière fusoriale contenue dans la partie concave de la calotte précédente. Ce phénomène que l'on a souvent décrit, mais sur lequel on a, semble-t-il, peu insisté, montre bien le lien qui existe ici entre les corps achromatiques de deux noyaux-fils.

MITOSE HOMÉOTYPIQUE. — Peu de choses retiendront ici notre attention. Notons que le temps de repos qui sépare les deux divisions est extrêmement court. La membrane qui apparaît en fin de télophase hétérotypique pour disparaître aussitôt semble alors la conséquence des réactions internes qui aboutissent au nouveau groupement des chromosomes et à la formation du fuseau.

C'est seulement à la télophase que l'on peut, une fois de plus, reprendre la numération des chromosomes. Nous en avons retrouvé 23.

La formation des tétrades polliniques et l'évolution du grain de pollen restent banales.

À la maturité du grain de pollen (fig. 130), l'exine porte des expansions aiguës qui distinguent ainsi ce pollen de celui du *Sterculia*.

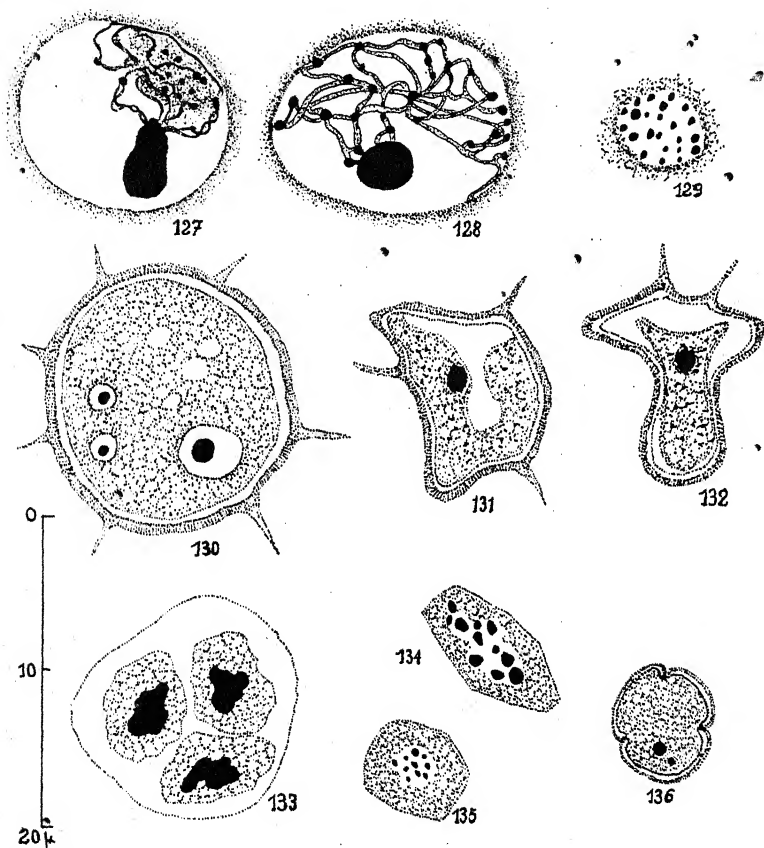


FIG. 127 à 133. — Microsporogénèse chez *Dombeya spectabilis*.

127 et 128 : Stades prophasiques hétérotypiques.

129 : Télophase hétérotypique avec 23 chromosomes.

130 : Grain de pollen au moment de sa dissémination.

131, 132, 133 : Aspects divers de la dégénérescence du pollen. En 133 on assiste à la caryolyse des noyaux des tétrades.

FIG. 134 à 136. — Microsporogénèse chez *Thomasia solanacea*. Remarquer les dimensions très réduites des cellules et celles relativement grandes des gemini (fig. 134). En 135, plaque équatoriale avec 10 chromosomes.

Le cytoplasme, peu vacuolisé, contient un noyau qui se divise très tôt en noyau reproducteur et végétatif; mais ici, le noyau reproducteur fournit généralement ses gamètes avant la déhiscence du sac pollinique.

Cette description serait incomplète si nous ne mentionnions l'avortement total ou partiel du pollen chez certaines fleurs. Le *Dombeya spectabilis* ne nous a jamais permis de constater l'existence de fleurs mâles ou femelles par disparition complète de l'androcée ou du pistil. La stérilité ici n'est plus à l'échelle organique mais cellulaire (1). Dans les fleurs fonctionnellement femelles le pollen est réduit, au moment de l'anthèse, à des enveloppes plus ou moins vidées de leur contenu. Parfois toutes traces du pollen ont disparu et les anthères sont vides. La mortification des cellules du germen peut dans ce cas remonter aux cellules-mères elles-mêmes comme chez le *Sterculia platanifolia*. Nous avons rencontré de pareils exemples dans de très jeunes fleurs. Généralement pourtant les phénomènes cytologiques atteignent le stade de la méiose et on observe un début de différenciation des grains de pollen. Alors brusquement l'activité des jeunes cellules est inhibée, leur contenu disparaît et finalement la jeune membrane du grain encore insuffisamment résistante s'affaisse (fig. 131 à 133) comme si la cellule avait subi une violente plasmolyse. La dégénérescence est également fréquente au stade tétrade où les noyaux réduits d'abord à des masses chromatiques (fig. 131) se résorbent ensuite pour disparaître totalement.

c) Etude de la macrosporogénèse.

L'évolution cytologique de l'ovule chez le *Dombeya* reste, dans ses grandes lignes, comparable à celles du *Sterculia*. Rien de nouveau, en particulier, à signaler en ce qui concerne la genèse du sac embryonnaire où les phénomènes décrits chez la plante précédente se retrouvent généralement.

Pendant la formation du sac embryonnaire une importante quantité de gouttelettes d'huile s'accumulent dans les tissus nucellaires et tégumentaires. Par la suite, ces matières sont rapidement absorbées par l'albumen en voie de formation.

La fécondité est très faible (5 % environ) chez le *Dombeya*. Il en est de même, ainsi que nous le verrons plus loin, pour le *Thomasia solanacea*. Nous avons cru tout d'abord que la cause incombait à une pollinisation défectueuse due à l'isolement de ces plantes dans les serres, à l'atmosphère calme qui les entoure, ainsi qu'à une protérandrie accentuée. Nous verrons plus loin l'origine possible de cette particularité. Ces faits expliquent la difficulté que l'on a de suivre l'évolution de la graine. Les échantillons fixés ne nous ont, de plus, fourni que des résultats médiocres, étant donné l'impossibilité où nous nous sommes trouvé d'obtenir des coupes convenables; la couche protectrice de la

(1) La seule exception que nous ayons rencontrée dans le genre *Dombeya* a été fournie par *D. ferruginea* où il y a bien une réduction dans les dimensions des étamines.

future graine prend rapidement ici une consistance scléreuse dont le durcissement est encore accru par le passage des pièces dans l'alcool absolu et le toluène. Au reste il s'agit ici de quelques détails secondaires qui ne révèlent pas beaucoup de faits qui n'aient été signalés à propos du *Sterculia*.

2) Sur la graine.

La graine mesure environ 3 mm. de longueur sur 2 mm. de largeur. Elle subit une dessiccation très grande qui rend sa surface anguleuse. Le tégument externe de couleur brun noirâtre est réduit à une très mince membrane. La secondine, au contraire, subit ici encore une différenciation très accentuée de son épiderme externe. Cette différenciation aboutit à la formation d'une zone en palissade analogue à celle que nous avons rencontrée dans la graine du *Sterculia*.

L'albumen peu abondant contient toujours comme matières nutritives de l'huile et de l'amidon. L'embryon très petit, fusiforme, porte deux cotylédons droits chez lesquels rien de spécial ne peut être relevé. La germination de ces graines est obtenue assez facilement si l'on prend soin de pratiquer une incision dans le tégument pour faciliter l'entrée de l'eau. Les graines placées après ce traitement sur une feuille de papier buvard humide germent au bout d'une semaine. La jeune plantule, très délicate, porte une racine très fine (1/2 mm. de large pour une plantule de 1 cm. de long) recouverte d'une assise fortement pilifère.

L'étude histologique des fleurs de *Dombeya spectabilis* nous met en présence d'une destruction cellulaire (1) plus ou moins intense pouvant affecter des éléments isolés ou groupés de régions diverses mais principalement de la base de l'ovaire. Lorsque le matériel est tué par un fixateur à base d'acide chromique, le contenu de ces cellules dégénérantes se présente sous forme de gouttelettes jaunâtres. C'est vraisemblablement du tanin, si l'on se base sur la réaction qu'elles donnent avec le chlorure ferrique.

Il n'existe, apparemment, aucun lien entre cette destruction et les phénomènes gommigènes que l'on constate dans les mêmes tissus. Pendant la transformation de l'ovaire en fruit, la mortification cellulaire s'intensifie encore. De pareils troubles dans des tissus jeunes où règne généralement une vitalité très marquée paraissent bien singuliers.

Malgré la dissemblance des phénomènes cytologiques, ces faits ne peuvent qu'évoquer ceux qui entraînent la dégénérescence de l'ovaire du *Sterculia*. Quoi qu'il en soit, du côté de l'ovaire rien d'analogue à ce qui se passe dans l'androcée ne peut être relevé; le gamète femelle conserve toutes les caractéristiques morphologiques d'un gamète normal.

(1) Retrouvée chez *D. Mastersii*.

4. Études caryologiques sur la fleur de *Thomasia solanacea*.

a) Observations morphologiques.

Cette plante que nous avons rencontrée à côté des *Dombeya* dans les serres du Jardin des Plantes de Montpellier, se présente sous la forme d'un arbuste de 1 m. 20 à 1 m. 50 de hauteur. Le tronc, glabre, porte à son sommet un certain nombre de courts rameaux. Les feuilles, petites, denticulées et rigides, sont recouvertes d'un épais duvet de poils jaunâtres. Ce sont encore des poils étoilés assez longuement pédicellés. Le nombre des branches radiaires peut aller de cinq à quinze.

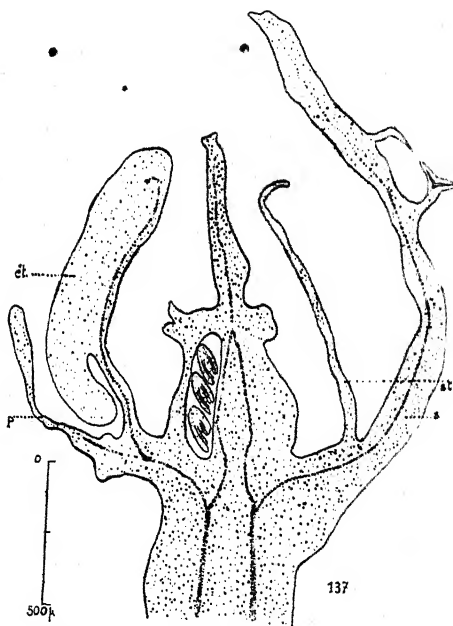


FIG. 137. — Coupe longitudinale de la fleur du *Thomasia solanacea*.

ét. : étamine; st : staminode;

s : sépale; p. : pétale.

Le staminode ne contient aucune trace vasculaire.

FLEURS. — A la fin du mois de février apparaissent des boutons floraux réunis en cimes unipares scorpioïdes. Chaque cime mesure environ 40 mm. et porte de quatre à six boutons. Ces derniers mettent plus d'un mois pour s'épanouir. Ce n'est, en effet, que vers le début d'avril que l'on peut rencontrer des fleurs bien ouvertes. Chaque fleur, située au sommet d'un pédoncule de 6 à 7 mm. de long présente l'aspect typique des fleurs des Solanacées.

Elle montre un calicule de trois pièces dialyphylles, un cycle de cinq sépales blancs pilifères gamophylles, un cycle de cinq petits pétales écailleux soudés par leur base au calice (1). L'androcée comprend deux cycles d'étamines dont un seul porte des anthères. Les étamines fertiles, alternes avec les sépales, ont leur anthère vivement colorée en rouge. Les autres pièces, épisépales, sont réduites à leur filet (fig. 137). Ces différentes étamines sont étroitement appliquées contre l'ovaire et forment au centre de la fleur une sorte de cône, rappelant celui de certaines Solanacées.

L'ovaire comprend trois carpelles avec deux ou trois ovules par loge carpellaire. Les ovules sont anatropes et pendants apotropes tout comme ceux du *Dombeya*.

FRUIT. — A la suite de la fécondation l'ovaire évolue pour donner une capsule sensiblement sphérique, mesurant environ 4 mm. de diamètre. La déhiscence est loculicide.

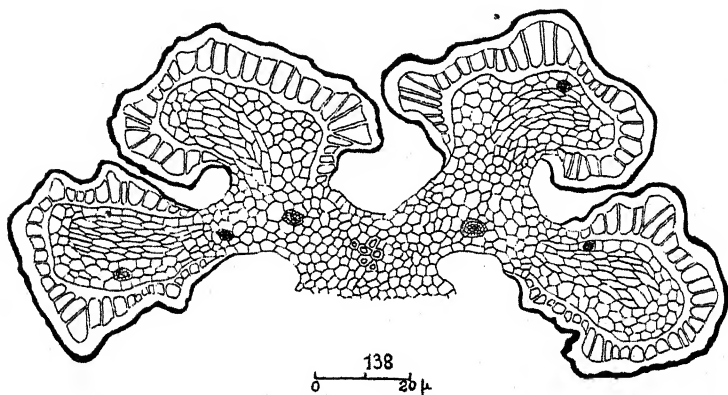


FIG. 138. — Coupe transversale d'une étamine de *Thomasia solanacea*.
Les taches grisâtres figurent des cellules gommeuses.

Tous les *Thomasia* dont nous avons surveillé la reproduction ont fait preuve d'une fécondité très faible. Sans doute les mêmes remarques formulées pour le *Dombeya* peuvent être reprises ici.

GRAINES. — La graine mesure à peine 1 mm. de long sur 1/2 mm. de large. De couleur noirâtre, elle présente une petite arille blanchâtre. La germination de la graine s'obtient difficilement sur papier buvard humide. La plantule, très frêle, montre deux faibles cotylédons. Elle rappellé assez bien les plantules des scrofulariacées herbacées.

STRUCTURE DE L'ÉTAMINE. — La structure de l'étamine du *Thomasia* présente des caractères bien particuliers. La disposition deux par deux des sacs polliniques rappelle encore assez vaguement celle du *Sterculia* et du *Dombeya*; la différence porte sur les sacs eux-mêmes (fig. 138). De très bonne heure les cellules de l'assise externe du sac se

(1) Dans certaines fleurs deux pétales peuvent être beaucoup plus développés que les autres.

distinguent des autres cellules par un accroissement diffus plus accentué. A la suite de ce phénomène, les parois externes et internes de ces cellules s'épaississent considérablement et forment ainsi deux strates collenchymateuses emprisonnant des compartiments cellulaires qui se vident rapidement de leur contenu. Ainsi donc de très bonne heure et avant même que les cellules-mères du pollen aient commencé de s'accroître, le sac pollinique se trouve limité par une enveloppe cellulaire rigide qui s'opposera ensuite à l'accroissement de son volume. Comme, d'autre part, l'assise nourricière (rarement double) se désagrège très tardivement, il en résulte que ces cellules-mères restent très petites et qu'au moment de leur maturité sexuelle, leur taille n'est guère plus avancée qu'aux tout premiers moments de leur différenciation.

La déhiscence de l'anthère se fait par deux déchirures longitudinales intéressant la région de séparation de deux sacs voisins.

Contrairement à ce qui a été noté à propos des organes végétatifs, l'oxalate de chaux, sous forme de mâcles, existe abondamment dans les tissus de l'anthère. Cette substance est surtout localisée dans les cellules du connectif et dans celles qui confinent aux cellules nourricières. Enfin, des cellules gommeuses, présentant les mêmes caractères de coloration que celles des espèces déjà étudiées, se rencontrent encore plus ou moins éparses dans les tissus staminaux.

STRUCTURE DE L'OVAIRE. — L'ovaire du *Thomasia* présente la même organisation anatomique que celui du *Dombeya*. Les seules différences portent sur le nombre des loges carpellaires (trois au lieu de quatre ou cinq) et sur l'absence de grosses poches gommeuses. Rien de particulier à noter, quant au développement de l'ovule qui, bien que de taille très faible, présente deux téguments bien normaux. Sa forme et sa position rappellent celles de l'ovule de *Dombeya*.

b) Etude de la microsporogénèse.

Pour suivre les différentes phases des divisions réductionnelles, il faut s'adresser à des boutons floraux ne dépassant pas 2 mm. de diamètre. En raison de la faible dimension des cellules-mères du pollen, l'épaisseur des coupes ne doit pas excéder 5 à 6 μ .

Les mêmes colorants que précédemment : hématoxyline, fuch sine basique (réaction de Feulgen) et safranine, ont été utilisés. A ces deux dernières teintures il a été adjoint du vert lumière.

LA MITOSE HÉTÉROTYPIQUE

PROPHASE. — Avant que débute cette phase, le noyau présente une homogénéité parfaite. Aucun des colorants employés ne permet d'y déceler une organisation quelconque. Seul le nucléole se colore par l'hématoxyline et la safranine. Cet organite, très petit, presque toujours unique, ne semble différer aucunement des nucléoles habituellement décrits.

Lorsque les noyaux commencent à subir des modifications d'ordre physico-chimique (révélées par les teintures), les membranes cellulaires ne se gélifient pas, contrairement à ce que l'on a observé jusqu'ici. Les cellules-mères polliniques conservent de ce fait leur forme initiale : très souvent allongées, rarement plus ou moins sphériques suivant leur position dans le sac. Il ne faut pas perdre de vue également que la coque rigide formée par l'assise mécanique a pour effet de conserver aux éléments contenus dans le sac leur forme initiale.

Pour décrire plus méthodiquement l'évolution caryologique et mieux comprendre les manifestations physico-chimiques successives, nous passerons en revue les différents matériels.

Matériel Helly-hématoxyline :

La fixation se réalise bien. La coloration, précédée d'un mordantage de douze heures, donne après un temps égal une teinte noire très intense. La régression très longue est peu facile à obtenir correctement. Il semble que la chromophilie des corps figurés du noyau n'est guère plus grande que celle du corps achromatique lui-même. C'est ainsi qu'après une régression que l'on peut croire bonne, le nucléole seul retient fortement le colorant. Le suc nucléaire laisse voir à sa périphérie de très petits granules réfringents.

Avec l'hématoxyline il en est ainsi jusqu'à la diacinèse quel que soit le fixateur employé (Bataillon, Helly, etc.).

Matériel Helly-Feulgen et Bataillon-Feulgen :

Cette fois les résultats sont nettement négatifs. Nous avons tout essayé, prolongation ou réduction de la durée de l'hydratation par HCl, ainsi que du séjour des coupes dans le réactif de Feulgen. Nous avons également modifié les concentrations des divers produits (acide chlorhydrique, fuchsine basique, bisulfite de soude) qui entrent dans cette technique de coloration. Aucune coloration, si insignifiante soit-elle, n'a été obtenue. Pas davantage, l'utilisation d'autres fixateurs (Flemming, Bataillon, Bouin, sublimé alcoolique) n'a constitué un remède.

Ces essais infructueux n'offriraient qu'un intérêt secondaire, s'il ne s'agissait que des premiers stades prophasiques. Or, il en est ainsi pour tous les autres stades y compris la métaphase. Lorsqu'on est averti de l'avidité avec laquelle les chromosomes métaphasiques retiennent habituellement la fuchsine basique, lorsqu'ils ont subi une hydratation plus ou moins prolongée, il est difficile de ne pas admettre ici une nature chimique particulière de la chromatine. En particulier, l'acide thymonucléique y ferait complètement défaut. D'ailleurs l'emploi de la safranine va nous révéler des caractères singulièrement frappants relatifs à l'origine et à l'évolution de ces chromosomes.

Matériel Balaillon-safranine-vert-lumière :

Ce matériel est le seul, en effet, qui nous ait fourni des résultats satisfaisants. Lorsque débute la prophase, le corps achromatique se colore légèrement en rouge. Le nucléole prend avec plus d'intensité cette coloration. Par la suite, la teinte rouge du suc nucléaire s'estompe, et bientôt apparaissent contre la membrane de très petits corpuscules chromophiles que supportent de fins filaments (deux ou trois) chromophiles, eux aussi. Le nombre de ces corpuscules ne semble jamais dépasser 18 ou 20. Après un ensemble de phénomènes qui se succèdent très rapidement et qu'il est difficile d'analyser avec toute la précision désirable, les filaments précédents disparaissent totalement. Par contre, les granules qu'ils supportaient augmentent considérablement de taille et s'accolent deux par deux, en même temps que la membrane nucléaire perd de sa netteté. Au stade postérieur la cellule-mère présente alors au centre de son cytoplasme peu abondant de grosses masses fortement colorées en rouge et disposées sans ordre apparent (fig. 134). Le volume total de ces masses comparé à celui qui, à ce moment, représenterait encore le noyau est remarquable et donne l'impression que toute la masse du corps achromatique a subi une précipitation. De plus, le nucléole lui-même ne peut plus être distingué des autres granules. Son volume s'est singulièrement augmenté et, semble-t-il, fragmenté car, à ce stade, il n'est guère possible de rencontrer le même nombre de corpuscules dans tous les noyaux. Lorsque ceux-ci sont complets, ce nombre oscille entre 11 et 13. Enfin, il est curieux de noter que tous ces granules ont un aspect plus ou moins en larmes rappelant avec toute la précision possible l'aspect des gouttes nucléoliniennes rencontrées dans les télophases des mitoses du *Sterculia* et du *Dombeya*.

Ajoutons encore que ce stade, qui doit être assimilé à une diacinèse, montre des chromosomes dans lesquels cependant il est rarement possible de mettre en évidence une apparence de dualité.

MÉTAPHASE. — Sans autre forme de transition, le stade précédent nous conduit à la métaphase. Mais alors, il est essentiel d'insister encore sur le fait que tout ce que l'on sait sur le passage de la prophase à la métaphase ne se trouve pas, morphologiquement du moins, réalisé ici. La membrane nucléaire, avons-nous dit, a disparu depuis longtemps. D'autre part, l'aire nucléaire des cellules allongées est, elle-même, très étroite (diamètre d'un chromosome). Cette aire occupe souvent tout le grand diamètre de la goutte cytoplasmique. Les chromosomes sont alors situés les uns à la suite des autres sur une file simple. Comment s'opère ensuite le rassemblement équatorial et la dissociation des gemini? Ce rassemblement, bien que mal analysé par nous, a lieu toujours et doit se réaliser très rapidement. Le phénomène est facilité par une sorte de plasmolyse de la cellule. Le cytoplasme abandonne en effet les parois

cellulosiques et se condense plus ou moins en boule, au centre de la cellule, tout autour du noyau (1).

Le fuseau présente un aspect normal. Sur les plaques équatoriales les chromosomes, au nombre de 10, ont des dimensions très réduites comparativement aux masses de la phase précédente (fig. 135). Il est indéniable qu'ils ont déjà abandonné une forte partie de leur substance, et c'est vraisemblablement cette dernière qui, dissoute dans la matière fusoriale, devient colorable dans les espaces interchromosomiques. Toute autre explication ne reposerait sur aucun fait.

ANAPHASE. — Ce stade est extrêmement rare dans les préparations. La translation des chromosomes vers les pôles doit donc s'opérer ici encore très rapidement. Les quelques figures observées n'ont présenté rien de particulier. Comme dans les plantes déjà étudiées, les chromosomes sont noyés dans une substance qui retient fortement la safranine. De plus, entre les deux plaques anaphasiques on observe des traînées rougeâtres de nature nucléolinienne qui achèvent de se dissoudre dans le suc fusorial.

TÉLOPHASE. — Etant donné l'exiguïté de l'espace dans lequel évoluent les chromosomes, ces derniers, à leur arrivée aux pôles, se tassent considérablement. L'aspect presque homogène de ces petits noyaux télophasiques, fortement colorés, rappelle celui des noyaux pycnotiques. Dans quelques cas très favorables le tassement précédent ne s'étant pas effectué, il nous a été possible de retrouver les 10 chromosomes de la métaphase. Ils étaient toujours très petits et noyés dans une substance chromophile. Les chromosomes télophasiques ne tardent pas à s'éloigner les uns des autres et un noyau à se reconstituer. La membrane nucléaire reste encore à peine ébauchée. Dans beaucoup de ces noyaux nous avons retrouvé un ou deux petits nucléoles dont l'aspect faisait penser à une simple augmentation de volume de certains chromosomes par condensation de nucléoline à leur surface.

LA MITOSE HOMÉOTYPIQUE

Les fuseaux homéotypiques apparaissent très rapidement et sont toujours de dimensions très réduites. Les plaques équatoriales très étroites portent des chromosomes tellement rapprochés les uns des autres qu'on ne peut les énumérer. Ils plongent, en outre, dans une substance fusoriale, chromophile elle aussi.

Après formation des quatre noyaux homéotypiques les corps achromatiques deviennent de plus en plus homogènes, tandis qu'un nucléole apparaît dans chacun d'entre eux. Pendant un temps relativement long on peut constater contre la membrane nucléaire reconstituée des granules colorés provenant des chromosomes télophasiques.

(1) L'action du fixateur paraît être hors de cause.

Contrairement à ce que nous avons vu chez *Sterculia* et *Dombeya*, aucune membrane ne se forme après la différenciation des quatre noyaux homéotypiques. Il se produit une sorte d'étirement de la gouttelette protoplasmique en quatre masses dont chacune entoure un noyau. Par une accentuation des étranglements protoplasmiques quatre cellules vont se séparer et constituer dès lors, après une rapide augmentation de volume, des grains de pollen (fig. 131). Nous n'avons jamais constaté d'avortement de pollen chez cette espèce.

C. — CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LES RÉSULTATS.

1. Interprétation des résultats caryologiques.

a) Généralités.

Avant de passer à la critique de nos recherches caryologiques, il est utile de voir si nos résultats peuvent être rapprochés des descriptions classiques (le *Thomasia* restant à part).

Sans entrer dans les détails de l'évolution des chromosomes, on peut déjà rencontrer des stades bien connus. Les figures 67 et 68, selon la définition même de Mc CLUNG (1905), correspondent, en effet, à un synzenis (1). Celles qui les précèdent seraient alors des stades synaptiques (MOORE, 1895), parmi lesquelles, toutefois, les deux premières représenteraient plus spécialement un zygotène (GRÉGOIRE, 1907).

Les figures 71 et 72 sont, d'après la définition de FLEMMING (1882), des spirèmes.

Enfin les stades suivants 75, 76, 77, 78 peuvent respectivement être homologués à des stades de pachytène (GRÉGOIRE, 1907) et de strepsinème (DIXON, 1900).

Quant aux figures 80 et 81, en raison de la forme que prennent les gemini, le terme de diacinèse (HAECKER, 1897) peut leur convenir fort bien.

On peut se demander alors s'il y a des rapports entre la structure et l'évolution des noyaux somatiques et celles des noyaux germinaux. Il semble que la réponse ne doit être que partiellement affirmative.

Dans le noyau interphasique on trouve un nucléole, des euchromocentres et un corps achromatique homogène. Les mêmes parties se retrouvent dans le noyau de la cellule-mère du pollen avant la prophase. Au cours de la prophase somatique, on note des trainées achromatiques prolongeant de part d'autres des granules étranglés en leur

(1) On confond généralement ce stade avec celui désigné par MOORE (1895) sous le nom de synapsis. Le synapsis qui, en général, précède immédiatement le synzenis, consiste en un appariement des cordons chromatiques. Le synzenis est la condensation de ces mêmes cordons.

milieu, les mêmes corps se retrouvent (fig. 76) dans la mitose réductionnelle. Le nucléole disparaît en prophase de la même façon de part et d'autre; il se reconstitue en télophase selon des processus analogues, gardant des relations étroites avec les chromosomes.

Des différences cependant doivent être soulignées. Certaines relèvent de la nature même de la méiose et étaient faciles à prévoir; d'autres l'étaient moins. C'est ainsi que la présence dans le noyau prophasique hétérotypique de filaments qui paraissent émaner des euchromocentres est inattendue. Certes on pourrait penser que les trainées achromatiques des euchromocentres de la mitose somatique ont la possibilité de devenir chromophiles dans la cinèse de maturation, mais la quantité de substance qui apparaît dans les cordons chromatiques, la longueur de ces derniers, enfin les phases qui se succèdent grâce aux nombreux agencements des divers tronçons de ces cordons et pendant lesquelles aucune trace d'euchromocentres ne peut plus être décelée, semblent montrer que les chromosomes de la cinèse somatique ont une importance bien limitée dans les nombreuses transformations physico-chimiques du noyau hétérotypique. Qu'est-ce qui se trouve représenté dans les corps étranglés de la prométaphase réductionnelle? Peut-on voir dans chaque couple une paire d'euchromocentres à laquelle se serait adjointe une abondante substance chromatique? Rien ne le prouve et l'on ne peut réellement certifier que dans chaque gémus il y a bien deux chromosomes somatiques. Il est évident que les nombres chromosomiques coïncident de part et d'autre, mais c'est tout ce que nous avons comme preuve de la pérennité des chromosomes. En vérité, c'est peu.

TÉLOSYNAPSIS ET PARASYNAPSIS. — Deux grandes théories divisent les cytologistes qui se sont occupés des mitoses réductrices: l'une dérive de la notion de métagynèse ou télosynapsis, l'autre, de celle de paragynèse ou parasynapsis. Toutes deux, défendues par d'éminents savants, conduisent au stade de diacinèse où l'on peut toujours compter un nombre haploïde de gémus.

Elles demeurent pourtant essentiellement différentes l'une de l'autre.

TÉLOSYNAPSIS. — D'après MOTTIER (1905, 1914), GATES (1908), DAVIS (1909), GEERTS (1908), FRAZER et SNELL (1911), SAKAMURA (1914) et bien d'autres encore, il ne serait jamais possible de rencontrer des filaments chromatiques plus ou moins intimement accolés en prophase. Pour ces auteurs, le cordon spirématique se scinderait simplement en n tronçons au lieu de $2n$, et dont chacun représenterait en réalité deux chromosomes somatiques aboutés.

Ces tronçons en se repliant ensuite sur eux-mêmes fourniraient les anneaux strepsinématiques. Nos diverses descriptions ne rappelant en rien cette manière de voir, nous n'insisterons pas davantage.

PARASYNOPSIS. — Par contre, un grand nombre d'autres auteurs (1), parmi lesquels on peut citer GREGOIRE (1905 et 1910), ARMAND (1921), DE SOUZA VIOLANTE (1929), guidés le plus souvent par le souci de résoudre certaines questions relatives à l'hérédité, veulent voir dans la dualité longitudinale très évidente qui caractérise certains filaments chromatiques de la prophase une association de deux chromosomes différents. Certains ont même pensé qu'il y a là un chromosome maternel et un chromosome paternel (2). Or, il est difficile de ne pas être frappé de la constance d'une dualité dans les filaments chromatiques de la plupart de nos figures. Très nette dans les stades les plus précoces de la prophase, où les chromosomes sont encore faiblement basophiles, elle s'estompe, il est vrai, au stade de synizésis pour disparaître presque complètement au pachytène; mais elle reparaît en prométaphase avec des particularités tout à fait typiques.

Nous avons pu, d'ailleurs, nous rendre compte que, même au stade de pachytène, certains tronçons présentent une région médiane plus claire, ou, ce qui est encore plus significatif, une ouverture circulaire très nette, due à un écartement des tronçons accolés. Nous nous sommes convaincu, d'autre part, qu'il ne pouvait s'agir là d'un clivage, puisque ce dernier s'effectue très tard, au stade de strepsinème seulement. Le cas du gros chromosome en V des figures 57 et 58 est assez démonstratif à cet égard.

Le *St. platanifolia* et le *Dombeya spectabilis* nous mettent donc en présence de cas parasyndétiques indiscutables. Le fait que ce sont des chromosomes couplés qui apparaissent au tout premier stade de la prophase, revêt une certaine importance, si l'on considère les discussions qu'a suscitées la notion de pérennité des chromosomes. Il eût été, en effet, bien surprenant, après ce que nous avons pu observer dans la cinèse somatique, de rencontrer en prophase hétérotypique non plus des euchromocentres ou des chromosomes, mais un noyau réticulé.

Un autre ordre de faits non moins intéressants nous est fourni par les répulsions et attractions alternatives qui se manifestent tout au long de la prophase hétérotypique entre les filaments chromatiques accolés ou les éléments d'un même geminus. Quelle est la part qu'il faut attribuer aux actions physiques et chimiques dans de tels phénomènes, on ne saurait le dire.

Enfin, reste le cas du *Thomasia*. Les phénomènes cytologiques y sont tellement différents de ceux relevés chez les deux autres espèces que toute interprétation ne peut qu'avoir un caractère provisoire et très risqué. Un fait est certain, c'est l'absence d'acide thymonucléique dans la chromatine de cette espèce. C'est là un événement qui pourrait avoir une signification plus large si l'on pouvait le retrouver dans

(1) WILSON (1928) en nomme un certain nombre.

(2) Il serait plus logique de parler de chromosomes homologues.

d'autres espèces de Lasiopétalées. D'autre part, nous ne savons pas la structure du noyau somatique du *Thomasia*. C'est une lacune que nous regrettons, mais que nous comblerons dès que nous en aurons la possibilité, car s'il était avéré que ce noyau est du type euchromocentrique ou prochromosomique, il serait possible d'y voir un cas vraiment intéressant où les chromosomes somatiques n'ont qu'à s'accoupler pour fournir une diacinèse.

LE NUCLEOLE. — Nous avons vu, aussi bien en prophase qu'en télophase, les circonstances qui entourent sa disparition ou son apparition. Notons encore ceci à propos de ce curieux constituant nucléaire : chez *Sterculia* et *Dombeya*, la matière chromophile de la substance du nucléole disparaît de plus en plus au cours de la prophase. Au terme de cette transformation chimique (prométaphase) le contour du nucléole devient de moins en moins visible, tandis que sa substance finit par s'identifier à celle du corps achromatique. A ce moment, gemini et enchylème nucléaire représentent les seules parties morphologiquement définies du noyau.

Le cas de non-disjonction du *Sterculia platanifolia*.

Cette question ayant déjà fait l'objet d'une note (G. GAZET DU CHATELIER, 1934), nous ne la reprendrons que pour préciser certains points.

Après avoir découvert et décrit le cas de non-disjonction dans les mitoses hétérotypiques des cellules-mères de pollen, nous avons pu, ensuite, retrouver les mêmes anomalies dans les divisions maturatrices de l'ovule. L'idée nous vint alors qu'il pouvait s'agir là d'un caractère assez général et nous avons cherché à le mettre en évidence dans les divisions Caryocinétiques de la racine. Nous n'y sommes point parvenu, ou, tout au moins, d'une manière aussi évidente que pour les mitoses de maturation ; car certains fuseaux somatiques seulement nous ont montré deux chromosomes (Feulgen positif) d'une même paire dressés selon leur axe. En raison du grand nombre des chromosomes de la plaque équatoriale, il s'agirait peut-être simplement ici, du résultat d'une action mécanique exercée par les autres chromosomes.

Les mitoses somatiques des ovules qui présentaient sur leurs fuseaux méiotiques des gemini en « précession » nous ont, par contre, montré un plus grand nombre d'anomalies. Nous y avons même noté, parfois, des grains chromophiles au voisinage des pôles, alors que la dissociation anaphasique n'était pas encore amorcée (1).

(1) La réaction de Feulgen ne permet pas d'assimiler ces grains à des gouttelettes nucléoliniennes.

Quoi qu'il en soit, la question se pose de savoir si les chromosomes qui sont susceptibles de s'accompagner lors des divisions réductrices de la cellule-mère du pollen et de celle du sac embryonnaire, représentent ou non des chromosomes sexuels. L'hermaphroditisme qui caractérise le *St. platanifolia*, n'est pas un obstacle à cette manière de voir. Nous savons, en effet, que des animaux hermaphrodites, tels que des *Helix*, peuvent porter des hétérochromosomes. Le cas de *Rhabditis nigroviridis* (nématode) est également un exemple très suggestif (voir GUYENOT, *Hérédité*). Chez les plantes supérieures, certains cas sont aussi fort intéressants. Les expériences de MAC PHEE (1924) sur *Cannabis sativa*, végétal dioïque, porteur d'hétérochromosomes, mais pouvant devenir hermaphrodite par l'effet de certaines variations de l'éclairement, doivent retenir l'attention.

D'une façon générale, les chromosomes sexuels se montrent différents des autosomes, à la fois par leur forte chromaticité et par leur conduite irrégulière lors des cinèses réductrices. Le premier caractère n'est pas souligné ici d'une façon particulière, mais le second l'est précisément dans les cas de non-disjonction. Et il est parfois curieux de constater qu'au lieu d'une « précession » il y ait un retard (succession) de dissociation d'un geminus. On le retrouve seul au centre du fuseau (microphotographie 3) lorsque les autres chromosomes sont déjà aux pôles. On ne peut alors s'empêcher de penser aux répulsions et attractions successives des chromosomes prométaphasiques signalés précédemment et aux forces qui s'exercent entre eux. Pour qu'il y ait séparation des deux chromosomes d'un geminus en anaphase, il faut, en effet, que les forces qui s'exercent des pôles soient supérieures à celles qu'ont l'un pour l'autre les deux éléments du geminus. Or, si l'inverse a lieu? ou encore si l'un des pôles a une action plus intense que l'autre sur certains chromosomes? (1).

Ce ne sont là évidemment que des suggestions, car la cause qui préside au phénomène de non-dissociation est encore à trouver.

Quelle que soit d'ailleurs cette cause, le résultat n'en demeure pas moins très important. En d'autres termes, on obtient toujours des gamètes à $n + 1$ et à $n - 1$ chromosomes aussi bien dans le pollen que dans l'ovule. Et si nous nous rapportons aux résultats des expériences réalisées chez des plantes où des cas de non-disjonction sont fréquents, nous sommes en droit de conclure que le *St. platanifolia* est, lui aussi, apte à fournir des mutants.

Malheureusement cet arbre ayant une croissance très lente, les expériences de génétique deviennent pratiquement impossibles.

(1) Cette idée n'est pas invraisemblable car nous avons souvent vu les deux chromosomes d'un même geminus se diriger vers un même pôle bien qu'ils fussent séparés l'un de l'autre (microphotographie 6).

2. Considérations sur la sexualité chez les Sterculiacées.

Ce titre peut paraître démesuré pour les conclusions que nous pouvons légitimement retirer des études relatives à la seule sexualité des Sterculiées et des Dombéyées. Ne perdons cependant pas de vue que chez cette dernière tribu des phénomènes sexuels particuliers n'avaient jamais été, à notre connaissance, signalés et que rien ne permet de dire, par conséquent, qu'on ne puisse pas les rencontrer ailleurs. En particulier, il serait possible que les Hélictérées et, principalement les *Pterospermum*, fournissent elles aussi des caractères sexuels voisins de ceux que nous connaissons chez les Dombéyées et les Sterculiées.

La sexualité peut être envisagée au double point de vue morphologique et cytologique.

a) Phénomènes morphologiques.

1^o STERCULIÉES. — Chez *Cola acuminata* et *Heritiera littoralis* l'évolution florale est sensiblement la même que chez *Sterculia plataniifolia*. Rappelons que chez cette dernière espèce les fleurs naissent avec les ébauches d'étamines et de carpelles. Par la suite, on constate, soit sur la même panicule, soit sur deux panicules voisines appartenant au même rameau, soit enfin sur des panicules appartenant à des rameaux différents, des fleurs exclusivement mâles ou femelles. Chez ces dernières les organes mâles subsistent, mais ne fonctionnent pas.

Les premières fleurs qui s'épanouissent sont mâles; les dernières sont presque toutes femelles. En outre, sur les panicules mâles il existe des fleurs légèrement plus petites que les fleurs fonctionnellement femelles, possédant en état de développement normal des étamines et des carpelles. Rien n'empêche, *à priori*, de considérer ces fleurs comme hermaphrodites, puisque d'une part leurs sacs polliniques libèrent un pollen apparemment bien constitué et que d'autre part leurs ovules produisent des graines.

Un fait digne de remarque chez les Sterculiées est l'apparition d'un dimorphisme floral parallèlement à l'avortement de l'un ou de l'autre organe reproducteur. La dégénérescence de l'ovaire entraîne un déséquilibre plus sensible. Ainsi les fleurs mâles du *St. plataniifolia* ont un gynandrophore plus long que celui des fleurs femelles qui, elles-mêmes, ont un style sensiblement plus développé que celui des fleurs hermaphrodites. Chez *Cola acuminata* le dimorphisme porte sur toutes les pièces des fleurs mâles qui sont, dans l'ensemble, plus petites que celles des fleurs femelles et portent, contrairement à celles-ci, un pigment plus ou moins pourpre. Chez *Heritiera littoralis* le dimorphisme est encore plus frappant. Le gynandrophore des fleurs femelles n'est plus qu'un

plateau très court reposant sur le pédoncule évasé. Enfin les filets staminaux existent toujours plus ou moins chez les fleurs mâles de ces espèces, alors que les anthères des fleurs femelles sont rigoureusement sessiles. Une grande singularité des Sterculiées est l'absence complète de stades progressifs entre les fleurs que nous considérons comme hermaphrodites (observées seulement chez *St. platanifolia*) et les fleurs unisexuées. C'est là une différence sexuelle fondamentale entre ces espèces et celles de certaines familles comme les Dipsacées (JAEGER, 1937) où les stades de transition s'observent très nombreux.

2° DOMBÉYÉES. — La sexualité est ici différente dans ses processus. Généralement les fleurs épanouies ont leurs organes mâles et femelles parfaitement développés. On peut donc, morphologiquement, les considérer comme hermaphrodites. Du reste, aucun botaniste ne signale d'autres fleurs dans ce groupe. Cependant chez certaines espèces et surtout chez *Dombeya ferruginea*, il existe des fleurs mâles, des fleurs femelles et des fleurs hermaphrodites. Bien plus, on peut suivre des stades intermédiaires entre ces cas limites. En outre, il y a, ici encore, un dimorphisme sexuel, car les fleurs hermaphrodites sont plus réduites que les autres; les étamines des fleurs femelles sont plus courtes que celles des fleurs mâles.

Chez d'autres Dombéyées que nous avons étudiées et principalement chez *D. spectabilis* aucune régression de tissus, sauf parfois celle de l'assise mécanique, ne peut être vérifiée. Et, précisément l'absence d'assise mécanique n'implique pas nécessairement une absence de grains de pollen. De là à conclure, chez ces espèces, à l'existence de fleurs uniquement ♂ il n'y a qu'un pas. Nous ne pouvons le faire en raison des particularités cytologiques que nous y avons relevées.

Avant de rappeler ces particularités certains faits méritent d'être signalés comme, par exemple, la fertilité extrêmement faible de ces espèces. Leur situation dans les serres n'en constitue pas une explication satisfaisante, car dans les mêmes serres de Montpellier nous avons rencontré des hybrides de *Dombeya* capables de fournir beaucoup de graines. D'autres causes sont donc à invoquer et avant tout on doit penser à une stérilité possible du pollen ou de la macrospore. Une atteinte du gamète femelle est rendue vraisemblable par la présence, dans les ombelles, de nombreux fruits développés mais dépourvus de graines. Quand on considère qu'une ombelle n'a que de 15 à 20 fleurs, que chaque fleur contient, en moyenne, 10 ovules seulement, on n'arrive pas à concevoir que, même dans le cas d'une forte stérilité mâle, les 150 ou 200 ovules de l'inflorescence ne puissent être fécondés. Bien mieux, on ne peut admettre qu'aucun des 10 ovules de certaines fleurs ne puisse être fécondé (1).

(1) On pourrait se demander, dans ces conditions, comment l'ovaire peut se développer. Sans doute y a-t-il une question d'hormone analogue à celle qui détermine le développement des follicules de *Sterculia*, même lorsque un ou plusieurs d'entre eux n'ont pas été fécondés.

3^e BUETTNERIÉES. — Nous n'avons pu suivre le développement d'aucune espèce de cette tribu; les fleurs de *Theobroma Cacao* conservées dans l'alcool, que nous avons eues entre les mains étaient toutes complètement épanouies et ♂. Nous n'avons pu vérifier si à l'apparence normale des fleurs correspondaient des caractères cytologiques également normaux.

Mais il est connu depuis longtemps que seules les fleurs situées sur le tronc et les grosses branches sont fertiles; les autres étant invariablement stériles. Or, il ne paraît pas exister de différences essentielles entre les deux catégories de fleurs. Du reste, quand bien même le pollen des fleurs des petits rameaux serait stérile, si l'ovaire était bien constitué, il fournirait des fruits. Donc cette fois encore nous devons faire intervenir l'hypothèse d'un ovaire atteint de stérilité.

b) Phénomènes cytologiques.

Ils ne sont pas identiques chez les Sterculiées et chez les Dombeyées.

Chez *Sterculia platanifolia* et, autant que nous avons pu nous rendre compte, chez *Cola acuminata*, la différenciation sexuelle femelle est très précoce. Chez la première espèce une question individuelle entre également en jeu. C'est ainsi que chez un *Sterculia* situé en face de l'annexe de la Faculté de Médecine de Montpellier, les cellules-mères du pollen n'atteignent que très rarement le stade de la division réductionnelle. C'est, généralement, vers le stade de la prophase hétérotypique qu'elles se détruisent. Le protoplasme prend alors un aspect granuleux pour devenir ensuite parfaitement homogène. La chromatine se rassemble autour du nucléole qui, parfois, éclate.

On assiste souvent à des extrusions de chromatine dans le protoplasme.

Cette histolyse aboutit finalement à la liquéfaction de tout le contenu du sac pollinique limité alors par l'épiderme seul. L'assise sous-épidermique qui, dans les sacs normaux, donne l'assise mécanique est détruite elle aussi. Chez d'autres individus ces processus cataboliques peuvent être beaucoup plus lents; on peut donc les observer avec beaucoup de détails. Nous avons vu que chez les fleurs femelles les sacs polliniques ne s'ouvrent pas et de ce fait (ou pour des raisons qu'il est difficile encore de prévoir) la régression de la plupart (1) des noyaux des grains de pollen apparemment normaux jusqu'ici ne tarde pas à apparaître. C'est d'abord une transformation de la substance nucléaire; le noyau prend un aspect pycnotique et une forme discoïde (fig. 141), tandis que sa substance devient très chromophile au point de ne plus pouvoir être différenciée après coloration par l'hématoxyline. Elle est positive au Feulgen. Puis les deux noyaux se morcellent et le proto-

(1) Certains grains germent sur place, ce qui pourrait faire penser à des causes différentes de celles que nous attribuons à la non-déhiscence des sacs polliniques.

plasme devient très granuleux pour, finalement, disparaître plus ou moins complètement du grain de pollen qui se trouve alors réduit à sa coque. Un pareil pollen se retrouve encore quand les follicules ont commencé leur développement.

Dans l'ovaire les phénomènes ne sont pas moins intéressants. Nous en avons déjà indiqué les faits essentiels. Rappelons simplement ici qu'à l'inverse de ce que nous ont appris les organes mâles, ce sont d'abord les cellules somatiques qui dégèrent, tandis que les cellules du sac embryonnaire ne disparaissent qu'après la mort de tous les tissus de l'ovaire et non sans avoir digéré les éléments du nucelle jus-

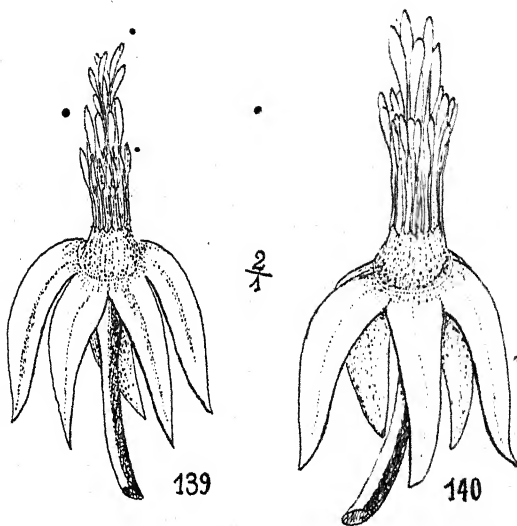


FIG. 139-140 : 139. Fleur ♀ de *Dombeya ferruginea*. Au centre de la fleur trois étages de pièces représentent de bas en haut les étamines stériles, les staminodes et les stigmates.

140. Fleur ♂ de la même espèce. Les dimensions sont plus grandes tandis que les stigmates ont disparu. La fleur figurée ici contenait 15 étamines fertiles et cinq staminodes.

Dans les deux fleurs les pétales ne sont pas représentés.

qu'au niveau de son assise épidermique. Et ainsi la macrospore (ou les cellules à noyau réduit qui la fournissent) manifesterait une vitalité remarquable parmi toutes les cellules de l'ovaire.

On ne peut cependant rien conclure de bien précis de cette résistance particulière à la dégénérescence, car rien ne prouve qu'avant le début de l'histolyse les futures cellules sexuelles possédaient intactes toutes les propriétés qui les caractérisent généralement. S'il en était ainsi, alors seulement il serait permis de penser que ce qui conditionne l'évolution mâle c'est la dégénérescence de l'organe femelle et qu'au contraire ce qui détermine l'évolution femelle, c'est la stérilité précoce ou tardive de l'élément mâle lui-même.

Chez les Dombeyées les phénomènes sont loin d'atteindre la même netteté. Nous n'avons jamais rencontré un avortement total de l'organe mâle ou de l'organe femelle. Même chez le *Dombeya ferruginea* où la réduction de l'ovaire est parfois évidente, il n'y a jamais disparition totale de l'organe. Et cependant les phénomènes cytologiques traduisent la tendance très nette que présentent certaines espèces à l'unisexualité. C'est ainsi que chez *Dombeya ferruginea*, *D. viburnoides*, *D. scabrida*, l'ensemble du pollen de certaines fleurs est stérile; ou bien les anthères sont vides et dans ce cas leur dégénérescence a été précoce, ou bien elles contiennent des grains de pollen réduits à leur enveloppe. La fleur est donc femelle par avortement des microspores.

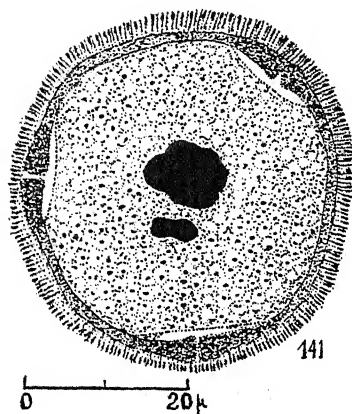


FIG. 141. — Grain de pollen du *Sterculia platanifolia*. Les noyaux sont dégénérés.

Chez d'autres espèces comme *D. spectabilis*, *D. Mastersii*, certaines anthères seulement sont stériles pour les mêmes raisons que précédemment, les autres fournissent un abondant pollen montrant à l'analyse un cytoplasme bien vivant et trois noyaux d'aspect normal. Ces caractéristiques n'impliquent toutefois pas une réelle fertilité de ce pollen, car nous avons rencontré des cellules pareillement constituées dans des anthères dont le pollen était, en grande partie, réduit aux enveloppes seules. Il est à présumer que ces microspores sont vouées, plus tardivement que les autres sans doute, à la même dégénérescence.

Enfin, parmi les fleurs d'aspect normal rien n'indique qu'il n'en existe pas avec des potentialités uniquement mâles ou femelles chez lesquelles les gamètes mâles ou femelles seuls sont atteints. Les travaux de JAEGER (1937-38) sur les Dipsacacées doivent suggérer toujours de semblables possibilités, lorsque dans une famille on peut constater une

certaine tendance à l'unisexualité. Malheureusement ce qui est possible de constater chez les Dipsacacées où le noyau reproducteur fournit ses deux gamètes dans le grain de pollen lui-même l'est beaucoup moins chez les Sterculiacées où généralement les gamètes ne prennent naissance qu'au moment de sa dissémination ou même dans le tube pollinique et au moment seulement où celui-ci atteint l'ovule (1).

Dans ces conditions l'analyse des faits est plus ardue, bien qu'elle ne soit pas impossible et exige beaucoup de fleurs, circonstance rarement réalisée dans les serfes.

La question pourra vraisemblablement être résolue par l'ovaire. A l'exception du *D. ferruginea* où les ovules de certaines fleurs avortent en même temps que l'ovaire (2), il n'est pas possible de rencontrer de régression ovulaire totale ailleurs. Or, ce qui frappe le pollen doit aussi frapper l'ovule. Il sera donc toujours possible, dans les pays d'origine, d'établir le taux des ovaires abortifs pour diverses espèces et de voir s'il existe des rapports constants entre eux.

De même, la germination des graines permettant de vérifier leur degré de vitalité constituera un moyen de contrôle efficace.

En résumé, chez les Sterculiées et les Dombéyées et peut-être aussi chez un plus grand nombre de Sterculiacées, il existe un problème sexuel dont les données actuelles, encore fragmentaires il est vrai, indiquent pourtant chez ces plantes une tendance certaine vers l'unisexualité. Il y a là une évolution qui se fait sous nos yeux et qui méritait d'être analysée et rapprochée des faits de même ordre que l'on découvre plus nombreux de jour en jour.

VI. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

De nos recherches histologiques et caryologiques, nous pouvons faire ressortir les faits suivants :

1° L'origine de la gomme est lysigène chez les plantes des tribus suivantes : Sterculiées, Eriolaenées, Hélictérées, Dombéyées, Hermaniées, à l'exception des espèces du genre *Myrodia* (Hélictérées) où elle est schizogène; elle peut être exclusivement schizogène (beaucoup de Buettneriées) ou encore peut être lysigène pour certaines poches d'une même plante et schizogène pour d'autres (Buettneriées). Nous n'avons

(1) Dans des germinations sur milieu artificiel nous n'avons jamais constaté la division du noyau reproducteur chez *Sterculia platanifolia*. Le milieu biologique employé (Liquide de Ringer glucosé) ne contient donc pas les éléments nécessaires à une telle cinèse.

(2) Le matériel conservé dans l'alcool à 50° ne permet pas d'étudier convenablement l'histolyse des tissus.

pas rencontré, pour une même poche, de formations schizo-lysogènes. Chez les Lasioptéales l'appareil gonimifère se ramène généralement à de grosses cellules gommeuses éparées ne se détruisant jamais intégralement.

Nos conclusions montrent ainsi que la genèse de la gomme n'a pas, chez les Sterculiacées, l'importance systématique qu'on lui a attribuée.

2° L'étude caryologique de trois espèces de Sterculiacées révèlent des faits importants à des titres divers :

a) Elle permet de comparer l'évolution d'un noyau germinal à celle d'un noyau somatique du type euchromocentrique. Il en résulte qu'avant que débute la prophase hétérotypique la structure du noyau germinal est celle d'un noyau euchromocentrique. Par la suite, des aspects comparables se retrouvent encore d'un côté comme de l'autre, mais la structure de la masse du noyau de la prophase hétérotypique semble essentiellement différente de celle du noyau somatique. Ce fait enlève toute possibilité de savoir si les chromosomes somatiques se retrouvent dans les gemini. Pour apporter une solution même partielle au problème de la pérennité des chromosomes chez les végétaux, il paraît nécessaire de comparer méthodiquement la mitose somatique des noyaux des plantes à prochromosomes (au sens de EICHORN) à la cinèse réductionnelle des mêmes plantes.

b) Elle prouve l'existence d'une orientation sexuelle très précoce chez le *Sterculia platanifolia* et montre que la stérilité du pollen et celle du prothalle femelle ne sont pas l'aboutissement de processus identiques. Ce qui est atteint le premier du côté mâle, c'est la cellule reproductrice elle-même (ou celles qui l'engendrent), alors que du côté femelle c'est l'ovaire qui est d'abord frappé; la destruction de la macrospore n'en est que la conséquence.

Chez *Dombeya spectabilis* des faits moins brutaux mais non moins significatifs existent, puisqu'ils démontrent encore que les fleurs, chez cette espèce, ne sont pas toutes physiologiquement hermaphrodites. L'orientation sexuelle n'est encore qu'au stade caryologique, ce qui est déjà suffisant pour qu'on puisse parler de fleur femelle. Rien par contre n'autorise à parler de fleur mâle chez cette espèce.

c) Elle met en évidence chez *St. platanifolia* un fait d'importance théorique non négligeable : une non-disjonction de chromosomes. De nombreuses anomalies relevant d'expériences de génétique reposent, on le sait, sur une telle irrégularité. L'intérêt du présent cas est de montrer une non-disjonction aussi bien au cours de la microsporogénèse qu'au cours de la macrosporogénèse. On conçoit que de multiples combinaisons peuvent résulter de la fécondation chez cette espèce.

d) Elle fournit dans le cas du *Thomasia solanacea* un exemple assez curieux de plante dont la chromatine est exempte d'acide thymonu-

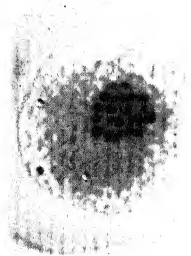
cléique (réaction de Feulgen négative). En outre, la constitution du noyau prophasique hétérotypique ainsi que le mode de formation des microspores pendant laquelle aucune membrane n'intervient pour départager le protoplasme de la cellule-mère, indiquent chez cette plante des caractères caryologiques d'une grande singularité.

3° Les caractères morphologiques et cytologiques des Sterculiées et des Dombéyées permettent de concevoir une orientation des Sterculiacées vers l'unisexualité. Dans le cas des Sterculiées les fleurs sont mâles, femelles et hermaphrodites, sans aucune forme intermédiaire entre ces trois stades. Chez les Dombéyées les formes intermédiaires existent en grand nombre pour les organes mâles, tandis que, morphologiquement, l'ovaire semble moins sensible à toutes transformations. Cependant des observations basées sur une forte stérilité des Dombéyées, sur une stérilité plus curieuse frappant les fleurs des jeunes rameaux de *Theobroma Cacao*, indiquent que la macrospore elle-même doit être touchée dans certains cas par des causes qui échappent à l'analyse, parce que inhérentes à l'ovaire lui-même.

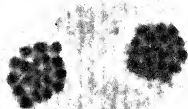
EXPLICATION DE LA PLANCHE I

Sterculia platanifolia.

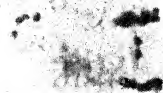
Fig. 1. — Métaphase hétérotypique avec 20 chromosomes. — Fig. 2. — Métaphases homéotypiques avec 20 chromosomes de part et d'autre. — Fig. 3. — Téléphase homéotypique. Au centre du fuseau une paire de chromosomes a subi un retard de disjonction. — Fig. 4 et 6. — Métaphases hétérotypiques des noyaux des cellules-mères de pollen : un geminus non dissocié précède les autres chromosomes. — Fig. 7. — Métaphase homéotypique du noyau de la cellule-mère du prothalle femelle : deux chromosomes sont déjà aux pôles. — Fig. 5. — Métaphase somatique. — Fig. 8. — Nucelle abortif au début de l'histolyse des tissus somatiques. Au centre, une énorme masse cytoplasmique munie d'un nucléole et de deux grosses vacuoles représente la cellule-mère du sac embryonnaire hypertrophiée. — Fig. 9. — Nucelle abortif montrant une histolyse déjà très accentuée. Le prothalle femelle est formé de quatre noyaux (deux seulement sont visibles ici). Le nucelle est réduit à son épiderme sous lequel il est possible de voir des masses noirâtres provenant de cellules plus ou moins complètement digérées.



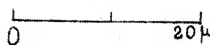
1



2



3



5



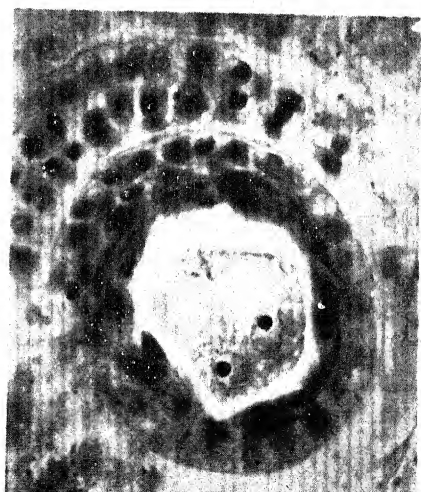
4



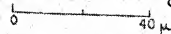
7

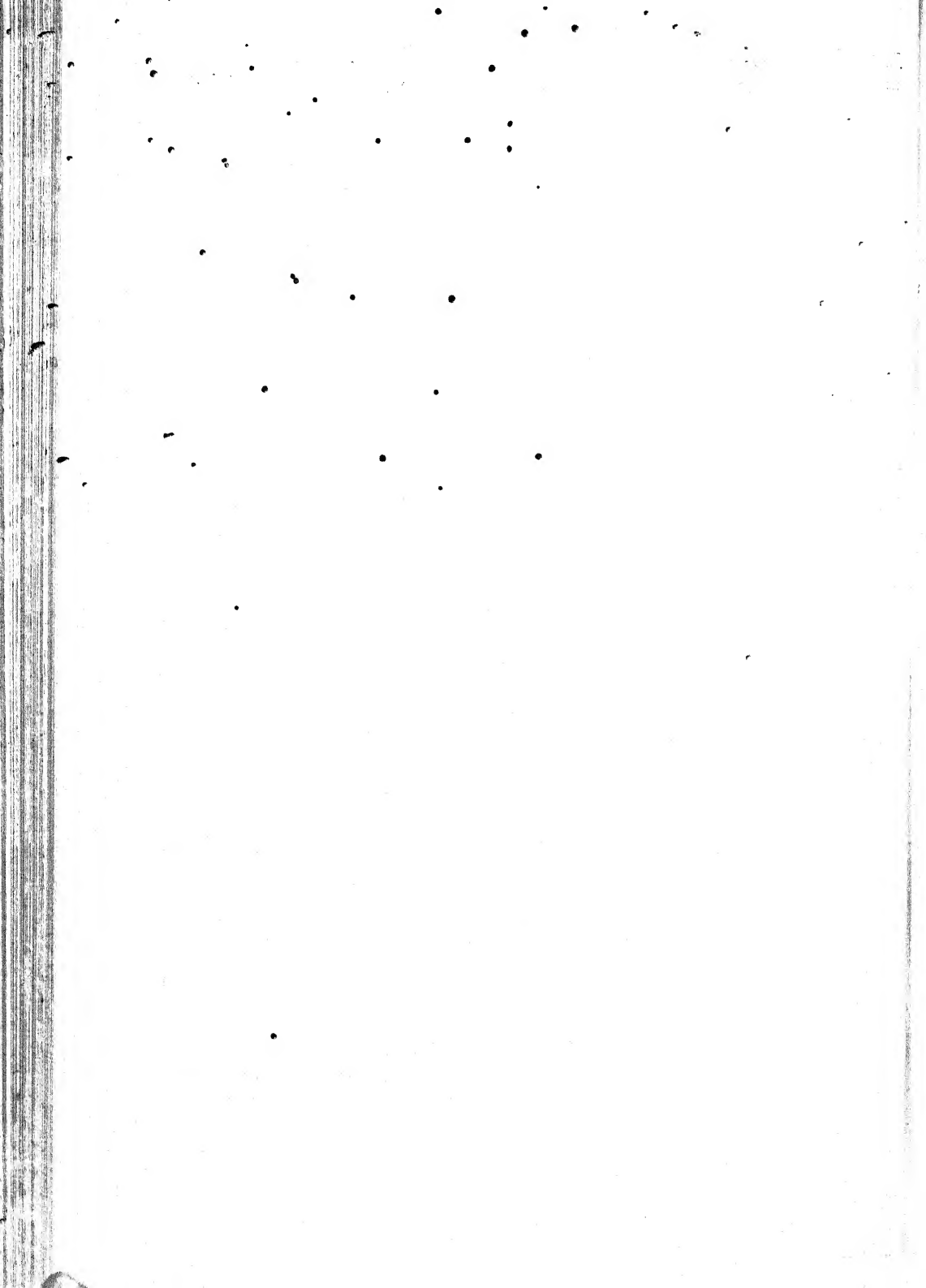


8



9





BIBLIOGRAPHIE

- ABELE (K.). — Zur Bildung der Nukleolen in den Pflanzenzellen. *Bull. Soc. Biol. Lettonie*, 1, p. 21-24, 1929.
- ID. — Untersuchungen über die Nukleolen. *Protoplasma*, 10, p. 550-567, 1930.
- ARMAND (L.). — Fécondation et développement de l'embryon chez les Lobéliacées. *C. R. Ac. Sc.*, 155, p. 1534-36, 1912.
- ID. — Recherches cytologiques sur le développement des cellules-mères de pollen chez les Lobéliacées et les Campanulacées. *Th. Fac. Sc.*, Poitiers, 1921.
- BARY (DE). — Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane, p. 150, 1877.
- BEER (R.). — Studies in spore development on the structure and division of the nuclei in the Compositae. *Ann. of Bot.*, 26, 1912.
- BEGHTEL (F.-E.). — The embryogeny of *Pastinaca sativa*. *Ann. Journ. of Bot.*, 12, 1925.
- BÉRGHIS (J.-B.). — La formation des chromosomes hétérotypiques dans la sporogénèse végétale. *La Cellule*, 21, 1904.
- ID. — La microsporogénèse de *Convallaria maialis*. *La Cellule*, 22, 1905.
- BLAKESLEE et BELLING. — Chromosomal mutation in the Jimson Weed : *Datura stramonium*. *Journ. Heredity*, 15, p. 194-206, 1924.
- BLEIER (H.). — Untersuchungen über das Verhalten der verschiedenen Kernkomponenten bei der Reduktionsteilung von Bastarden. *La Cellule*, 40, p. 83-144, 1930.
- BOUCHERIE (E.). — Les phénomènes cytologiques de la sporogénèse chez *Barbula muralis*. *C. R. Ac. Sc.*, p. 1692-94, 1913.
- BRANDZA (M.). — Développement des téguments de la graine. *Th. Fac. Sc.*, Paris, 1891.
- CAMP (G. VAN). — Le rôle du nucléole dans la caryocinèse somatique (*Clivia miniata*). *La Cellule*, 34, p. 5-50, 1904.
- CHAMBERS (R.). — Some physical properties of the cell nucleus. *Science*, N. S., 40, p. 824-827, 1914.
- ID. — Microdissection studies on the germ cell. *Science*, 41, p. 290-293, 1915.
- ID. — The physical structure of protoplasmas determined by microdissection und injection in Cowdry. *Chicago Univ. Press, Gen. Cytology*, p. 235-309, 1924.

CHODAT (R.). — La caryocinèse et la réduction chromatique observées sur le vivant. *C. R. Soc. Phys. et Hist. Nat. Genève*, **41**, p. 96-99, 1924.

CHRISTOFF (M.) et GENTSCHKEFF (G.). — Untersuchungen über das Verhalten des Nukleolus während der Kernteilung. *Leitsch. f. Zellf.*, **15**, p. 540-546, 1932.

COSTER (Ch.). — *Ann. Jard. bot. Buitenzorg*, **35**, 1925.

DANGEARD (P.). — Sur le bourgeonnement des nucléoles observé chez le *Lathraea clandestina* et chez quelques plantes à prochromosomes. *C. R. Ac. Sc.*, p. 1627, 1934.

DAVIS (B.-M.). — The reduction division of *Oenothera biennis*. *Ann. of Bot.*, **24**, 1911.

Id. — Pollen development of *Oenothera grandiflora*. *Ann. of Bot.*, **23**, 1909.

DEMBROVSKI (J.). — Karyologische Studien an Wurzelmeristem höheren Pflanzen. *Bot. Arch.*, **104**, p. 854, 1930.

DEVISE (R.). — La figure achromatique et la plaque cellulaire dans les microsporocytes du *Larix europea*. *La Cellule*, p. 249-307, 1932.

DIXON (H.-H.). — On the first mitosis of the mother-cells of *Lilium*. *Notes from the bot. school of Trinit. Coll. Dublin*, 1900.

DOUTRELIGNE (M^{me} J.). — Chromosomes et nucléoles dans les noyaux du type euchromocentrique. *La Cellule*, **42**, p. 31-100, 1933.

EICHHORN (A.). — Recherches caryologiques comparées chez les Angiospermes et les Gymnospermes. *Arch. de Bot.*, **5**, p. 1-100, 1931.

Id. — Chromocentres et prochromosomes; leurs rapports entre eux et avec la cinèse. *Rev. gén. Bot.*, **44**, 1932.

Id. — Nouvelles contributions à l'étude des végétaux à prochromosomes et à chromocentres. *Rev. Cytolog. et Cytophysiolog. vég.*, p. 150-179, 1935.

EICHHORN (A.) et FRANQUET (R.). — La mitose somatique des Cucurbitacées. Contribution à la connaissance des noyaux porteurs de prochromosomes. *Arch. du Muséum*, **6**, p. 205-224, 1931.

Id. — Numération chromosomique et étude de la mitose somatique chez *Asclepias cornuti*. *C. R. Ac. Sc.*, p. 776-778, 1936.

Id. — Numération chromosomique et évolution nucléaire chez *Koeleria paniculata*. *C. R. Ac. Sc.*, p. 1609-1611, 1936.

FARMER. — Sporogenesis in *Pallavicinia*. *Bot. Gaz.*, **41**, 1906.

FEULGEN (R.) et BRAUNS (Fr.). — Untersuchungen über die Nuclealfärbung. *Pflüger's Arch. f. ger. Physiol.*, **203**, p. 415, 1926.

FRASER et SNELL. — The vegetativer divisions in *Vicia*. *Ann. of Bot.*, **25**, **6**, 1914.

- FRASER. — The behavior of the chromatin in the meiotic divisions of *Vicia faba*, *Ann. of Bot.*, **28**, 1914.
- FREW (P.) et BOWEN (R.-H.). — Nucleola behavior in the mitosis of plant cells. *Quart. Journ. Micr. Sc.*, **73**, p. 197-214, 1929.
- GATES (R.-R.). — A study of reduction in *Oenothera rubrinervis*. *Bot. Gaz.*, **46**, 1908.
- ID. — Somatic mitosis in *Oenothera*. *Ann. of Bot.*, **26**, 1912.
- GAZET DU CHATELIER (G.). — Un nouveau type de noyau interphasique. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, p. 81-88, 1936.
- ID. — Sur l'origine des fleurs mâles du *Sterculia platanifolia*. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, p. 331-333, 1934.
- ID. — De l'appareil gommifère du *Sterculia platanifolia* L. *Ibid.*, p. 62-65, 1934.
- ID. — Les particularités cytologiques de la fleur du *Sterculia platanifolia*. *Arch. Intern. Cytolog. (Cytologia)*, p. 176-183, 1936.
- GEERTS (J. M.). — Cytologische Untersuchungen einiger Bastarde von *Oenothera gigas*. *Ber. der Deuts. Bot. Gesells.*, **29**, **3**, 1908.
- GÉRARD (R.). — Traité pratique de micrographie, p. 157, 1887.
- GHIMPU (V.). — Recherches cytologiques sur les genres : *Hordeum*, *Acacia*, *Medicago*, *Vitis* et *Quercus*. *Arch. Anat. micr.*, **26**, p. 135-234, 1930.
- GRÉGOIRE (V.). — Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes. *La Cellule*, **22**, 1905.
- ID. — Les fondements cytologiques des théories courantes sur l'hérédité mendélienne. *Ann. Soc. Roy. Zool. et Mal. Belg.*, **42**, 1907.
- ID. — Les cinèses de maturation dans les deux règnes. *La Cellule*, **26**, 1910.
- ID. — Euchromocentres et chromosomes dans les végétaux. *Bull. Ac. Roy. Belg.*, **17**, p. 1435-1448, 1932.
- GUILLIERMOND (A.) et GAUTHERET (R.). — Sur l'étude vitale de la structure des cellules végétales. *C. R. Soc. Biol.*, **124**, p. 534-537, 1937.
- GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — Traité de cytologie végétale. Paris, 1933.
- GUYÉNOT (E.). — La variation. Doin, Paris, 1930.
- ID. — L'évolution. *Ibid.*, 1930.
- ID. — L'hérédité. *Ibid.*, 1931.
- HEITZ (E.). — Heterochromatin, Chromocentren, Chromomeren, *Ber. d. D. Bot. Gaz.*, **47**, p. 274-284, 1929.
- ID. — Die Ursache der Gesetzmässige Zahl, Lage, Form und Grösse pflanzlicher Nukleolen. *Planta*, **12**, p. 775-844, 1931.

- HEITZ (E.) — Nukleolen und Chromocentren in der Gattung *Vicia*. *15, Planta*, p. 495-505, 1931.
- Id. — Die Herkunft der Chromocentren. *18, Planta*, p. 571-636, 1932.
- HOLLANDE (A. Ch.). — Les nucléosomes et l'organisation du noyau de la cellule. *Arch. Zool. Exper. et Gén. (Protistologia)*, n° 72, fasc. 3, t. 79, p. 317-380, 1937.
- HUREL-PY (G.). — La réaction de Feulgen sur la cellule végétale. *Rev. Cytolog. et Cytophysiol. vég.*, p. 67-76, 1936.
- JAEGER (P.). — Étude de la sexualité chez les Dipsacacées. *Th. Fac. Sc., Strasbourg*, 1937.
- Id. — Morphologie et biologie florales chez les Dipsacacées. *Th. Fac. Pharm., Strasbourg*, 1938.
- JUNGERS (V.). — Les figures caryocinétiques et le cloisonnement du protoplasme dans l'endosperme d'*Iris Pseudo-Acorus*. *La Cellule*, 40, p. 291-354, 1931.
- KAUFMANN (B. P.). — Chromosome structure and its relation to the chromosome cycle. I. Somatic mitoses in *Tradescantia pilosa*. *Amer. Journ. Bot.*, 13, p. 59-80, 1926.
- KOERPERICH (J.). — Étude comparative du noyau, des chromosomes et de leurs relations avec le cytoplasme. (*Nothoscordum*, *Eucomis*, *Beschorneria*). *La Cellule*, 39, p. 307-398, 1930.
- KOTLIAREWSKAJA (M.). — Das Verhalten des Nucleolus bei der Karyokinesis der Pflanzenzellen. *Zeitschr. f. Zellf.*, 14, p. 465, 1931.
- KUHN (E.). — Die Beziehung der Chromocentren zur Chromosomenbildung. *Ber. d. Bot. Ges.*, 47, p. 420-430, 1929.
- LAIBACH (Fr.). — Zur Frage nach der Individualität der Chromosomen in Pflanzenreich. *Beih. Bot. Centr. Abt.*, 1, 22, 1907.
- LANGERON (M.). — Précis de microscopie. Paris, 1934.
- LENOIR (M.). — Technique cytologique. Méthode de différenciation des chromatines nucléaires par l'hématoxyline et la safranine après fixation au liquide de Bouin-Duboscq-Brasil. *Rev. Gén. Bot.*, 38, p. 354, 1926.
- Id. — Évolution des chromatines: leurs rapports entre elles et avec la cinèse. *Arch. Morph. gén. et expér.*, 26, 1926.
- LITARDIÈRE (R. DE). — Recherches sur l'élément chromosomique dans la caryocinèse somatique des Filicinées. *La Cellule*, 31, p. 255-475, 1921.
- Id. — Les diverses étapes de l'« agonie » des noyaux sous l'influence d'une température élevée. *C. R. Soc. Biol.*, 92, p. 796, 1925.
- LUBIMENKO et MAIGE. — Recherches cytologiques sur le développement des cellules-mères de pollen chez les Nymphéacées. *Rev. Gén. de Bot.*, 19, 1907.

- LUNDEGARDH (H.). — Ueber Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger dikotylen Pflanzen. *Svensk. Bot. Tids.*, **111**, 1910.
- ID. — Chromosomen Nukleolen und die Veränderungen im Protoplasma bei der Karyokinese. *Beitr. Biol. Pfl.*, **11**, p. 373-542, 1912.
- ID. — Das Karyotin im Ruhekern und sein Verhalten bei der Bildung und Auflösung der Chromosomen. *Arch. f. Zellf.*, **9**, p. 205-330, 1912.
- MAIGE. — Formation des chromosomes hétérotypiques chez *Asphodelus macrocarpus*. *Rev. Gén. Bot.*, **25**, 1924.
- MALTE (M.). — Cytologische Studien über *Euphorbia*. *Bot. Notis.*, p. 75-87, 1909.
- MANGIN. — Sur la production de la gomme chez les Sterculiacées. *C. R. Ac. Sc.*, p. 725, 1895.
- MARTENS (P.). — Le cycle du chromosome somatique dans les phanérogames. I. *Paris quadrifolia*. *La Cellule*, **33**, p. 331-428, 1922.
- ID. — Le cycle du chromosome somatique dans les phanérogames. II. *Listera ovata*. *La Cellule*, **38**, p. 67-174, 1927.
- ID. — Recherches expérimentales sur la cinèse dans la cellule vivante. *La Cellule*, **38**, p. 67-174, 1927.
- ID. — Nouvelles recherches sur la cinèse dans la cellule vivante. *Ibid.*, **39**, p. 167-216, 1928.
- Mc CLUNG (C.-E.). — The Spermatocyte divisions of the *Locustidae*. Kansas. *Univ. Sc. Bull.*, **14**, 1905.
- MOTTIER (D.-M.). — The development of the heterotypic chromosomes in pollen mother-cells. *Bot. Gaz.*, **40**, 1905.
- ID. — The behavior of the chromosomes in the spores Mother-cells of Higher Plants. *Bot. Gaz.*, **35**, 1904.
- NAMIKAWA (I.), SISA (M.) et AASAI (K.). — On the flower types of *Diospyros kaki*. *Jap. Journ. of Bot.*, **6**, p. 139-172, 1932.
- NAWASCHIN (M.). — Näheres über die Bildung der Spermakerns bei *Lilium martagon*. *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg*, **11**, 1910.
- NEMEC (B.). — Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere Zytologische Fragen. Berlin, 1910.
- NEWTON (W. C. F.). — Studies on somatic chromosomes, I, Pairing and segmentation in *Gallonia*. *Ann. of Bot.*, **38**, p. 197-206, 1924.
- NOTHNAGEL (M.). — Reduction Divisions in the pollen mother cells of *Allium tricoccum*. *Bot. Gaz.*, **61**, 1916.
- NYI TSU-KIANG. — Observation on the sex differentiation and flower anatomy of *Firmiana simplex* Wight. (*Firmiana plataniifolia* Scott and Endl., *Sterculia plataniifolia* L.). *Contribut. Biol. Lab. Sc. of China*, **5**, n° 3, p. 1-23, 1929.
- ID. — Carpel dehiscence in *Firmiana simplex*. *Bot. Gaz.*, **93**, p. 205-212, 1932.

- OVERTON (J.-B.). — Ueber Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen. *Jahrb. wiss. Bot.*, **42**, p. 121-153, 1905.
- Id. — On the organisation of the nuclei in the pollen-mother-cells of certain plants with special reference of the permanence of the chromosomes. *Ann. Bot.*, **23**, p. 19-61, 1909.
- REED (T.). — The nature of the double spireme in *Allium Cepa*. *Ann. of Bot.*, **28**, p. 271-281, 1914.
- ROBYNS (W.). — Le fuseau de caryocinèse et le fuseau de cytoginèse dans les divisions somatiques des Phanérogames. *La Cellule*, **34**, p. 365-454, 1924.
- ROSENBERG (O.). — Das Verhalten der Chromosomen in einer hybriden Pflanze. *Ber. der D. Bot. Gesells.*, **21**, 1904.
- Id. — Ueber die Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. *Flora*, **93**, p. 251-259, 1904.
- Id. — Ueber den Bau des Ruhekerns. *Svensk. Bot. Tids.*, **3**, 1909.
- Id. — Weitere Untersuchungen über die Chromosomenverhältnisse in *Crepis*. *Svensk. Bot. Tids.*, **14**, p. 319-321, 1920.
- SAKAMURA (T.). — Ueber die Kernteilung bei *Vicia Cracca*. *Bot. Mag., Tokyo*, **28**, 1915.
- Id. — Ueber die Einschnürung der Chromosomen bei *Vicia faba* L. *Ibid.*, **29**, 1916.
- SARGENT (E.). — The formation of the sexual Nuclei in *Lilium martagon*. *Ann. of Bot.*, **10**, 1897.
- SCHNEIDER (H.). — Ueber die Prophasen der ersten Reifeteilung in Pollenmutterzellen, etc. *Arch. für Zell.*, **12**, 1914.
- SCHURHOFF (P.-N.). — Die Zytologie der Blütenpflanzen. 1 vol., Stuttgart, 1926.
- SHINKE (N.). — On the spiral structure of chromosomes in some higher plants. *Mens. coll. Sc. Kyoto Imp. Univ. s. Bot.*, p. 239-245, 1930.
- SINET (E. DE). — Chromosomes, prochromosomes et nucléole dans quelques Dicotylées. *La Cellule*, **29**, p. 333-378, 1914.
- SOROKIN (H.). — A study of meiosis in *Ranunculus acris*. *Amer. Journ. Bot.*, **14**, p. 76-84, 1927.
- Id. — The chromosomes of *Ranunculus acris*. *Amer. Natur.*, **61**, p. 571-574, 1927.
- Id. — Cytological and morphological investigations on gynodimorphic and normal forms of *Ranunculus acris*. *Genetics*, **12**, p. 59-83, 1927.
- Id. — Idiograms, nucleoli and satellites of certain *Ranunculaceae*. *Amer. Journ. Bot.*, **16**, p. 407-420, 1927.
- SPRUMONT (G.). — Chromosomes et satellites dans quelques espèces d'*Ornithogalum*. *La Cellule*, **38**, p. 269-292, 1928.

- SOUZA-VIOLANTE (J.-M. DE). — La parasyndèse dans *Balsamina hortensis* et *Campanula persicifolia*. *La Cellule*, **39**, p. 233-268, 1929.
- STEVENS. — Observations on hierostylous plants. *Bot. Gaz.*, **47**, 1912.
- STOUT (A.-B.). — The individuality of the chromosomes and their serial arrangement in *Carex aquatilis*. *Arch. f. Zellf.*, **9**, p. 114-140, 1912.
- TAYLOR (W.-R.). — Chromosome constrictions as distinguishing characteristics in plants. *Amer. Journ. Bot.*, **12**, p. 238-244, 1925.
- TRÉCUL (A.). — Des mucilages chez les Malvacées, le Tilleul, les Sterculiacées, les Cactées et les Orchidées indigènes. *Adansonia*, t. **7**, p. 248, 1866-67.
- TREUB (M.). — Le sac embryonnaire et l'embryon dans les Angiospermes. Nouvelles recherches. *Ann. Jard. Bot. Bul.*, **11**, **9**, 1911.
- VAN TIEGHEM (Th.). — Sur les canaux à gomme des Sterculiacées. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, p. 17, 1885.
- Id. — Sur les canaux sécréteurs des plantes. *Ann. Sc. Nat.*, **1**, p. 17, 1885.
- Id. — Traité de botanique. Paris, 1891.
- WAGER (H.). — The nucleolus and nuclear division in the root apex of *Phaseolus*. *Ann. of Bot.*, **18**, p. 29-95, 1904.
- WILSON (E.-B.). — The cell in development and heredity. New-York, 1928.
- WOOLERY (R.). — Meiotic Divisions in the Microspore Mother Cells of *Smilacina racemosa*. *Ann. Bot.*, **29**, 1915.
- YAMAHARA (G.) et SINOTO (Y.). — On the behavior of the nucleolus in the somatic mitosis of higher plants, with microchemical notes. *Bot. Mag. Tokyo*, **39**, p. 205-219, 1925.
- YAMANOUCHI (S.). — Mitosis in *Fucus*. *Bot. Gaz.*, **47**, 1910.
- Id. — Chromosomes in *Osmunda*. *Ibid.*, **29**, 1912.
- YAMI (K.). — Studies of *Diospyros Kaki*. *Bot. Gaz.*, **60**, p. 262-273, 1915.
- YU CHIH-CHEN. — Recherches sur quelques problèmes de la caryocinèse des Angiospermes. *Act. Sc. et Indust.*, **723**, II. *Cytolog. et Cytophysiolog. vég.*, p. 1-78, 1938.
- ZIRKLE (C.). — Nucleolus in root-tip mitosis of *Zea Mays*. *Bot. Gaz.*, **86**, p. 402-418, 1928.
- Id. — Nucleoli of the root-tip and cambium of *Pinus Strobus*. *Cytologia*, **1**, p. 85-104, 1930.

Sur les caractères chromosomiques et la systématique des *Poa* du groupe du *P. annua* L.

par M. R. DE LITARDIÈRE

(Mémoire reçu le 7 Juin 1939).

Depuis la publication de nos recherches relatives au *Poa annua*, parues récemment dans cette Revue (T. III, p. 134-145), nous avons reçu de M. J.-A. NANNFELDT, d'Upsala, deux mémoires très documentés et extrêmement intéressants se rapportant au même sujet; ces mémoires n'avaient pas encore paru au moment où nous rédigeons notre manuscrit. Nous remercions vivement le savant botaniste suédois de l'envoi qu'il nous a fait. Nous avons été heureux de constater que les données que nous avons fournies concernant les nombres chromosomiques des *Poa annua* subsp. *exilis*, subsp. *typica* et subsp. *varia* var. *supina* concordent avec celles de M. NANNFELDT, qui a étudié des plantes de provenances différentes (1).

L'auteur est aussi d'avis que la souche des *Poa* du groupe *annua* est d'origine méditerranéenne; il envisage que le *P. annua*, presque exactement intermédiaire entre les deux types diploïdes à $2n = 14$ (*exilis* et *supina*), dérive d'une hybridation qui se serait produite dans les montagnes méditerranéennes. Bien que cette hypothèse soit *a priori* plausible, il nous paraît assez difficile de l'admettre, si on considère la distribution *actuelle* de ces plantes, ainsi que leur époque de floraison. Le *P. exilis* (2), en effet, à ce que nous sachions, n'arrive jamais en contact avec le *P. supina*, plante qui, dans la région méditerranéenne, occupe les étages élevés; la floraison du premier est toujours hâtive, celle du second, au contraire, tardive (conséquence à des conditions stationnelles défavorables).

(1) *P. annua* subsp. *exilis* : Palestine (3 localités), Algérie (1 localité), Maroc (3 localités).

P. annua subsp. *typica* : Suède (15 loc.), Caucase (1 loc.).

P. annua subsp. *varia* (= *P. supina*) : Suède (15 loc.), Suisse (1 loc.).

(2) C'est uniquement pour simplifier que nous écrivons ici et parfois ailleurs dans ce texte « *P. exilis* », « *P. supina* », etc., ce qui ne signifie nullement que nous accordons la dignité d'espèce à ces plantes, comme nous le ferons ressortir plus loin.

Cette origine hybride ne pourra être déclarée certaine, comme le reconnaît d'ailleurs M. NANNFELDT, que le jour où sera connu l'hybride *exilis* × *supina*; c'est jusqu'ici sans succès que le savant suédois a essayé d'effectuer le croisement entre les deux types. Nous sommes toujours enclin à penser que le *Poa annua* vulgaire (subsp. *typica*) dérive d'une mutation du subsp. *exilis*, occasionnée par une duplicature chromosomique. Le processus qui a permis cette duplication nous échappe évidemment d'une façon complète. On peut envisager un croisement de gamètes qui n'auraient pas subi la réduction chromatique, ou encore une duplicature somatique qui se serait produite lors de la première division du zygote. Le *Poa maroccana*, type spécial à l'Algérie et au Maroc décrit par M. NANNFELDT, qui est très voisin du *P. exilis*, mais qui possède les anthères plus allongées du *P. annua* typique et se montre tétraploïde comme ce dernier, pourrait être, pensons-nous, le premier terme de la série qui, à partir du *P. exilis*, a abouti plus ou moins rapidement au *P. annua* typique. M. NANNFELDT estime cependant que le caractère des grandes anthères du *P. maroccana* « emanate (directly or indirectly) from *P. supina*, though other traces of that species can hardly be seen » (1). Nous ferons remarquer que l'absence dans l'Afrique du Nord — d'après M. NANNFELDT — du *P. supina* à $2n = 14$ paraît devoir infirmer cette hypothèse.

*
* *

Outre les recherches qu'il a faites sur les *Poa exilis*, *annua* et *supina*, M. NANNFELDT a étudié d'autres représentants de la section *Ochlopoa* : le *P. dimorphantha* Murb., le *P. maroccana* Nannf., enfin le *P. rivulorum* Maire et Trab., type vicariant du *P. supina* dans les hautes montagnes marocaines; les uns et les autres se sont montrés tétraploïdes ($2n = 28$), comme le *P. annua*. L'auteur a pu aussi examiner divers hybrides (ou plus exactement, d'après notre manière de voir, des métis) : *P. annua* × *supina*, *P. annua* × *exilis*, *P. annua* × *maroccana*; les deux premiers possèdent $2n = 21$, le troisième $2n = 28$.

Les observations tant caryologiques que morphologiques ont conduit M. NANNFELDT à donner une révision systématique des éléments constitutifs des *Poa* de la section *Ochlopoa*; dans son mémoire de 1938, le savant suédois a publié une étude minutieuse de leurs caractères. Il énumère les espèces suivantes :

1. *P. dimorphantha* Murb. Espèce spéciale aux parties basses du Maroc occidental, très distincte des autres membres de la section *Ochlopoa*, avec lesquels elle ne paraît pas susceptible de s'hybrider. — $2n = 28$.

(1) NANNFELDT in *Svensk Botanisk Tidskrift*, 32, p. 313.

2. *P. armata* H. B. K. (1) (= *P. annua* subsp. *exilis* Murb.). — $2n = 14$.
3. *P. maroccana* Nannf. — $2n = 28$.
4. *P. annua* L. — $2n = 28$.
5. *P. supina* Schrad. — $2n = 14$.
6. *P. rivulorum* Maire et Trab. — $2n = 28$.

Il nous est impossible de nous rallier aux vues de l'auteur qui envisage comme espèces les « races chromosomiques », « même si leurs caractères morphologiques sont faibles », ce qui est le cas, par exemple, du *P. rivulorum* par rapport au *P. supina* (2). Nous ne pouvons que répéter ici ce que nous avons écrit dans le *Prodrome de la flore corse* à propos des *Viola sylvestris* et *Riviniana* (3) : « La différence de nombre des chromosomes est évidemment un caractère important, mais, à notre avis, ce n'est pas un critérium absolu pour attribuer l'autonomie spécifique à deux plantes affines ».

Nous proposons le classement suivant pour les subdivisions de l'espèce très polymorphe *P. annua* L. (4) :

- I. Subsp. *exilis* (Tomm.) Murb. (= *P. armata* H. B. K.)
- II. Subsp. *typica* (Beck) Br.-Bl.
 - var. *maroccana* (Nannf.) R. Lit., nov. comb.
 - var. *typica* Beck emend. Briq. *Prodr. fl. corse*, 1, p. 132, incl. var. *picta* Beck.
- III. Subsp. *varia* Gaud (5).
 - var. *supina* (Schrad.) Reichb.
 - var. *rivulorum* (Maire et Trab.) R. Lit. et Maire, emend. (= *P. rivulorum* Maire et Trab. et *P. annua* subsp. *varia* var. *supina* R. Lit. et Maire, quoad pl. marocc., non Reichb.).

(1) Il a été reconnu par l'auteur que le *P. armata* H. B. K. [*Nov. gen. et sp.*, I, p. 158 (1815)], des montagnes de Colombie, est identique au type méditerranéen — *P. annua* subsp. *exilis* (Tomm.) Murb. — décrit bien plus tard (1877) par TOMMASINI. Introduite dans l'Amérique du Sud très probablement par les Espagnols, la plante a été retrouvée au Pérou et en Bolivie, où elle croît entre 200 et 4.100 mètres d'altitude.

(2) « Though the morphological differences between *P. supina* and *P. rivulorum* are very slight, they had according to the principles formulated above better be regarded as separate species ». (NANNFELDT in *Svensk Bot. Tidskr.*, 32, p. 313).

(3) Le *V. sylvestris* possède 20 chromosomes somatiques, le *V. Riviniana* 40.

(4) Ce classement, en ce qui concerne la subdivision en sous-espèces, est celui qui a été donné dans le *Catalogue des plantes du Maroc* de JAHANDIEZ et MAIRE. Notre excellent collègue et ami, M. le prof. R. MAIRE, nous faisait part tout dernièrement qu'il maintenait sa manière de voir et, comme nous d'ailleurs, qu'il ne pouvait se rallier à la conception spécifique de M. NANNFELDT.

(5) Nous attirerons l'attention sur l'intérêt que peut présenter l'étude — qui reste encore à faire — des caractères chromosomiques de certains *Poa* rattachés au subsp. *varia*, par exemple celui des hautes montagnes corses [*P. annua* var. *exigua* (Fouc. et Mand.) Hack.] qui ne paraît être qu'un état stationnel réduit du var. *supina*.

CONCLUSIONS

L'étude caryologique des *Poa*, à laquelle M. NANNFELDT et nous-même nous sommes livrés, est un exemple de la part féconde que la Caryologie peut apporter à la Systématique. De même que « les caractères anatomiques doivent être utilisés au même titre que les caractères extérieurs, dont ils ne diffèrent en rien » (1), de même doivent être utilisés les caractères caryologiques — d'une valeur si grande — et, ajouterons-nous, tous les caractères (physiologiques, chimiques, etc.). Mais il est exagéré de baser exclusivement une « espèce » sur une différence relative à la garniture chromosomique. Un seul caractère, si important soit-il, ne suffit pas à individualiser une espèce. L'unique méthode susceptible de rendre compte des rapports des différents membres qui sont en relation les uns avec les autres est celle qu'ont appliquée les grands systématiciens modernes : admettre des espèces collectives dans lesquelles se trouvent groupées, suivant leur importance, suivant leur degré de différenciation, des sous-espèces, des variétés, des sous-variétés et des formes. Ces groupes sont des ensembles plus ou moins arbitraires d'individus (car, dans la nature, il n'y a que des individus) qui présentent des caractères communs. Il nous semble illogique de mettre, par exemple, sur le même pied d'égalité que les *Quercus coccifera* et *Q. Robur* — espèces incontestables qui ont la même garniture chromosomique (2) — le *Poa supina*, le *P. rivulorum*, les Jacinthes « King of the Yellow », « Grand Maître », « La Grandesse » — dont la garniture chromosomique est dissemblable. Les Jacinthes que nous venons de citer diffèrent autant entre elles d'ailleurs que les *Poa supina* et *rivulorum*; en les considérant comme espèces autonomes, nous oublierons qu'elles appartiennent en réalité au groupe spécifique *Hyacinthus orientalis*!

(1) BRIQUET in BURNAT, *Fl. Alp. mar.*, 3, p. XXVIII.

(2) Cf. NATIVIDADE (1937).

BIBLIOGRAPHIE

- JAHANPIEZ (E.) et MAIRE (R.). — Catalogue des plantes du Maroc (Spermatophytes et Ptéridophytes), 1, p. 66 (1931).
- LITARRIÈRE (R. DE). — Prodrome de la flore corse, 2, part. 2, p. 199-200 (1935).
- Id. — Recherches sur les *Poa annua* subsp. *exilis* et subsp. *typica*. Relations taxonomiques, chorologiques et caryologiques. *Rev. Cytologie et Cytophysiologie végét.*, 3, p. 134-161 (1939).
- NANNFELDT (J.-A.). — The chromosome numbers of *Poa* sect. *Ochlopoa* A. et Gr. and their taxonomical significance. *Botaniska Notiser*, ann. 1937, p. 238-254.
- Id. — *Poa maroccana* Nannf. n. sp. and *P. rivulorum* Maire et Trabut, two more tetraploids of sect. *Ochlopoa* A. et Gr., and some additional notes on *Ochlopoa*. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 32, p. 295-321 (1938).
- NATIVIDADE (J.-V.). — Recherches cytologiques sur quelques espèces et hybrides du genre *Quercus*. *Bol. Soc. Brot.*, 2^e sér., 12, p. 54-59 (1937).
-

Introduction à l'étude d'hybrides interspécifiques de *Nicotiana*

par P. GISQUET, J. DUFRÉNOY et Mlle A. DUSSEAU

(Mémoire reçu le 26 Juin 1939).

Le *Nicotiana tabacum* var. *purpurea* employé comme l'un des parents pour le croisement interspécifique que nous étudions est un monosomique; les plaques équatoriales à la première métaphase de la méiose montrent 23 chromosomes bivalents et un monovalent, sa formule est donc $23_{II}+I$ (fig. 1).

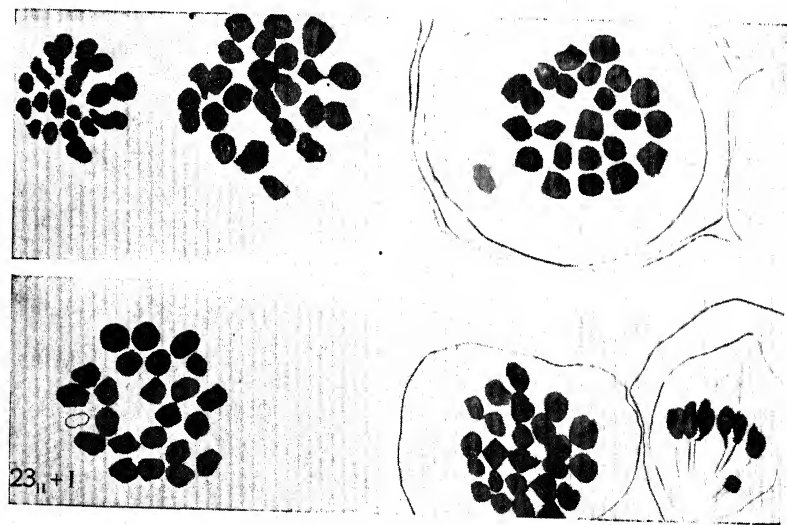


FIG. 1. — *Nicotiana tabacum* var. *purpurea*,
cellules mères des grains de pollen (P. M. C.) — Métaphases I.

La présence de ce monovalent paraît entraîner quelques irrégularités au cours de la mitose : à l'anaphase les vues de profil montrent le monovalent retardé au niveau de la plaque équatoriale, entre les deux groupes de chromosomes qui se dirigent chacun vers un pôle. Le monovalent s'étire généralement pour enfin se diviser en deux moitiés dont chacune tend tardivement à se rendre à l'un des pôles (coupes de $10\ \mu$, cellules mères du pollen colorées au violet de gentiane (fig. 2).

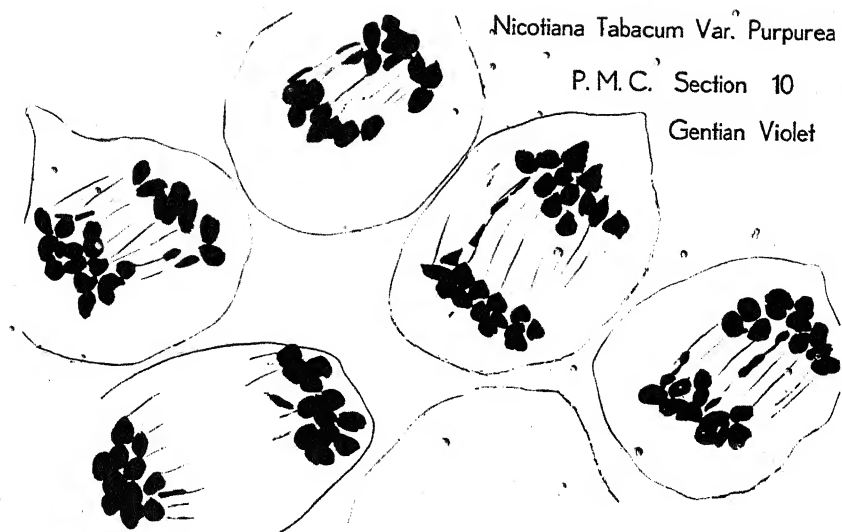


FIG. 2. — Anaphases I.

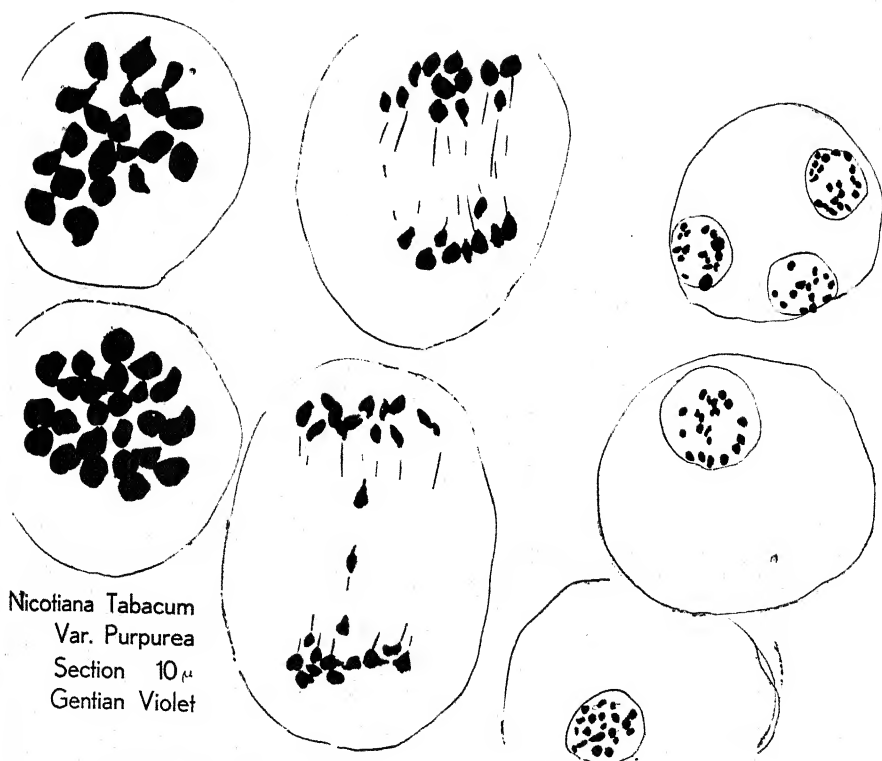


FIG. 3. — Métaphases I, anaphases I, tétrades.

Certaines figures montrent plus d'un chromosome attardé au niveau du plan équatorial; l'un ou l'autre de ces chromosomes attardés peut se fragmenter.

Après formation de la tétrade, on peut compter, dans chacun des 4 noyaux à l'état quiescent, 22 à 23 prochromosomes (fig. 3).

La F_1 de l'hybride *Nicotiana tabacum* var. *purpurea* \times *N. sylvestris* (*N. sylvestris* 12₁₁, fig. 4) est pratiquement stérile. Beaucoup de cellules mères de grain de pollen avortent; lorsque des figures de méiose

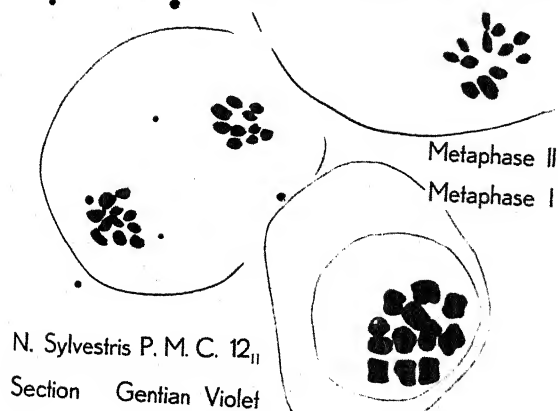


FIG. 4. — *Nicotiana sylvestris*.

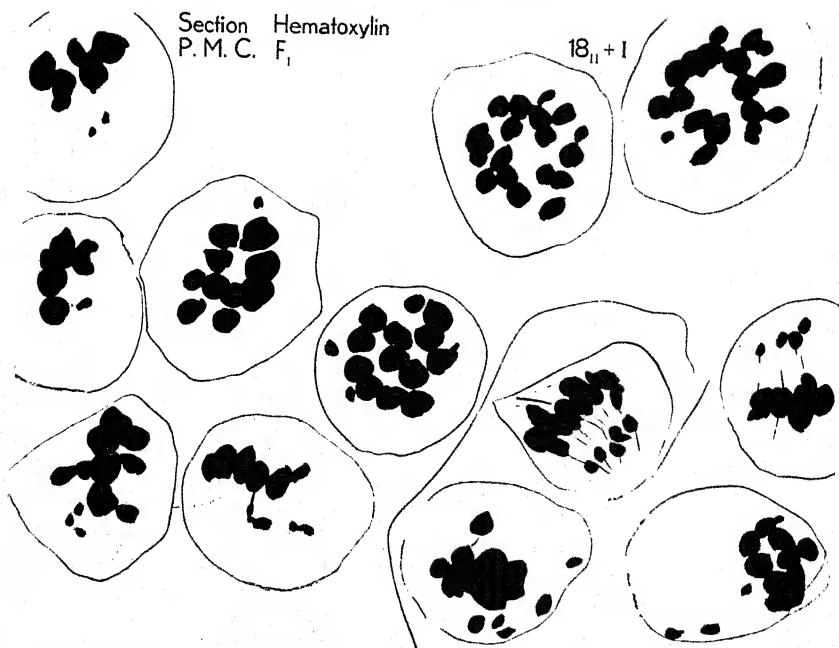


FIG. 5. — *Nicotiana tabacum* var. *purpurea* \times *N. sylvestris* F_1 , métaphases I.

peuvent s'observer, elles montrent toutes les irrégularités possibles, telles que l'un des noyaux du gamète mâle pourrait recevoir presque tous les 24 chromosomes « tabacum » et les 12 chromosomes « sylvestris », l'autre noyau étant réduit à un « micronucleus », ou que chaque noyau peut recevoir 12+6 chromosomes, ce qui paraîtrait « équilibré » mais est, en fait, extrêmement rare. Entre ces deux cas extrêmes tous les intermédiaires semblent pouvoir se réaliser comportant souvent l'élimination d'un nombre plus ou moins grand de chromosomes hors du fuseau, mais seules certaines combinaisons pourraient être viables (fig. 5 et 6).

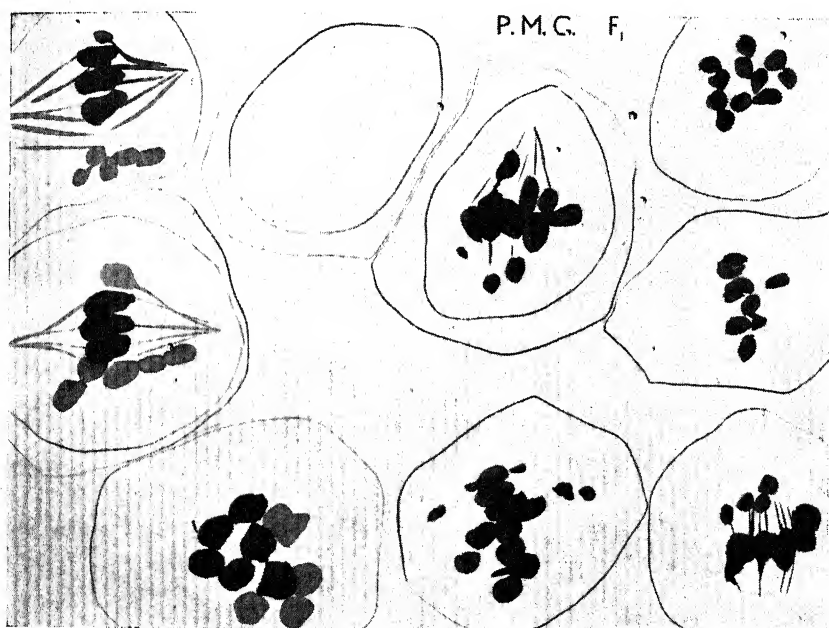


FIG. 6. — *N. tabacum* var. *purpurea* × *N. sylvestris* F₁. Métaphases I.

Ces irrégularités résultent de ce qu'au synapsis 12 des chromosomes (ou 11) d'origine « tabacum » ne trouvent pas chacun un chromosome homologue comme partenaire, chacun de ces 12 (ou 11) chromosomes peut demeurer univalent, ce qui introduit des irrégularités dans la suite des phénomènes, à partir de la métaphase. Il en résulte une infertilité telle que les expérimentateurs étrangers, n'ayant jamais obtenu la F₂ par autofécondation de l'hybride, ont eu recours au back-cross.

Cependant quelques graines ont pu être obtenues des quelques capsules arrivant à maturité sur les hybrides F₁ autofécondés à l'Institut expérimental de culture des Tabacs à Bergerac. Elles ont permis

d'obtenir en F_2 une ségrégation entre phénotypes voisins de « tabacum » et phénotypes voisins de « sylvestris ». La plupart de ces types sont infertiles; cependant, là encore, quelques graines peuvent être obtenues et, au cours des générations suivantes, il est possible d'isoler des lignées de moins en moins infertiles, de moins en moins « déséquilibrées ».

Un type tel que celui de la lignée 48, montre encore en F_9 des irrégularités telles que celles des figures 7 et 8 (plaques équatoriales

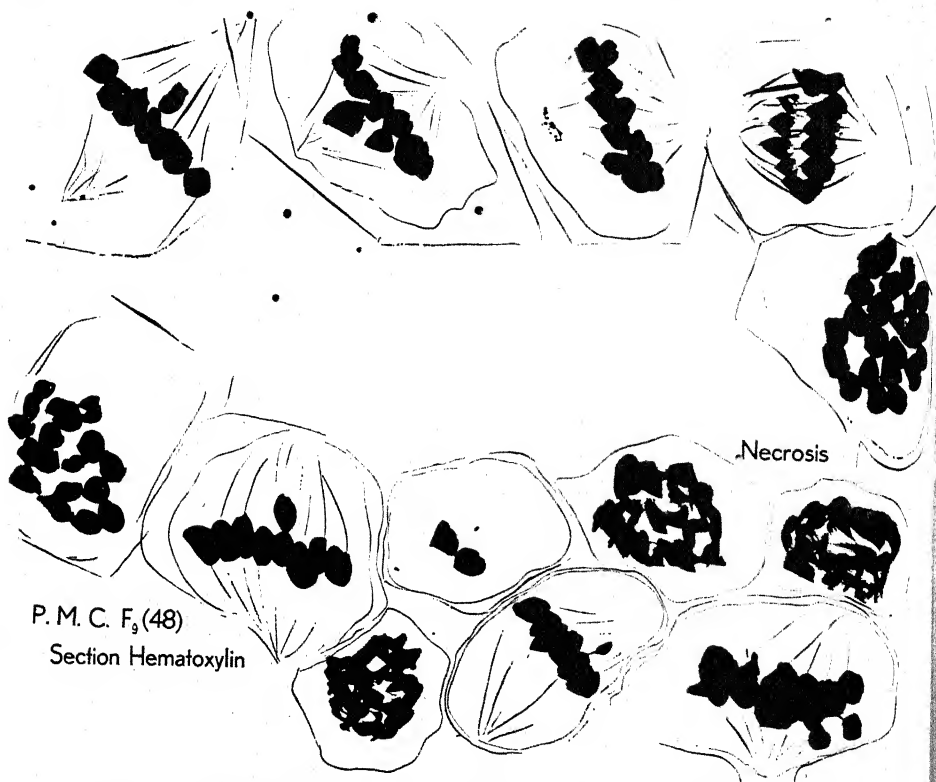


FIG. 7. — *N. tabacum* var. *purpurea* \times *N. sylvestris* lignée 48, F_9 . Métaphases I.

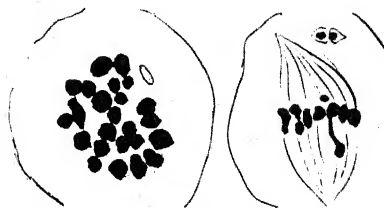


FIG. 8. — *N. tabacum* var. *purpurea* \times *N. sylvestris* lignée 48, F_9 . Métaphases I (coupes 7 μ , hématoxyline).

avec chromosomes en dehors de la plaque, le long du fuseau ou hors du fuseau, microcytes, nécroses), mais aussi un grand nombre de figures mieux équilibrées surtout du type « tabacum » (fig. 9).

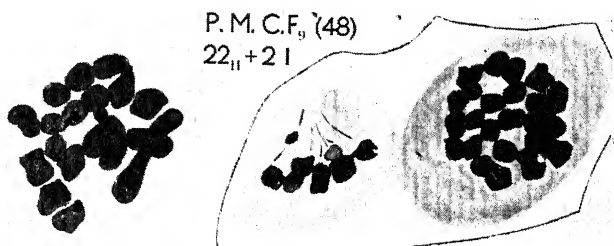


FIG. 9. — *N. tabacum* var. *purpurea* × *N. sylvestris* lignée 48, F_0 .
Métaphase I.

Remarques sur la technique microchimique de localisation des alcaloïdes.

Étude du cas particulier de l'Hordénine.

par M. YVES RAOUL

(Mémoire reçu le 18 Avril 1939).

Dans la conclusion de la monographie qu'il consacrait en 1914 à la localisation et au rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les Végétaux (1), A. GORIS s'exprimait comme suit :

« ...Nous pensons qu'il n'y a plus grand'chose à attendre de l'application indéfinie de ces procédés de localisation; lors même qu'ils seraient plus ou moins modifiés, on pourra joindre aux nombreux résultats déjà connus ceux de recherches consacrées à des Végétaux ou à des principes non encore étudiés, mais l'accumulation de ces résultats n'ajoutera rien d'essentiel à la biochimie végétale; ce ne sera qu'une page supplémentaire aux travaux déjà parus; aucun fait saillant, aucune idée nouvelle, croyons-nous, n'en pourront résulter. »

Malheureusement on ne peut que constater aujourd'hui la justesse relative de cette vue et les méthodes microchimiques réduites à quelques réactions de coloration ou de précipitation sont demeurées d'une insuffisance évidente.

Doit-on pour autant abandonner de telles recherches; sont-elles aussi stériles qu'on pourrait ainsi le croire? Nous ne le pensons pas, car si la méthode microchimique, tant qu'elle ne sera pas franchement renouvelée, ne peut seule apporter de conclusion définitive, elle reste encore un *auxiliaire* précieux. Ne permet-elle pas au biochimiste d'aborder un problème par un côté fort différent de celui auquel il est habitué, en l'obligeant à ramener à leur véritable dimension, qui est celle de la cellule, les phénomènes qu'il veut expliquer? Quand elle n'aurait que cet avantage, cette méthode demeurerait très utile, mais elle apporte de plus des résultats non négligeables lorsqu'on les rapproche, pour une question délimitée, de ceux fournis par d'autres techniques. Encore faut-il dans chaque cas particulier ne pas se contenter des techniques existantes, mais les perfectionner le plus possible.

Ainsi, selon nous, l'étude précise des réactions spécifiques des composés organiques conduite dans le même esprit que l'analyse à la touche

en chimie analytique minérale permettrait de sortir de l'impasse où les techniques de localisation sont engagées.

Nous présentons ici une étude de localisation réalisée selon ces vues, celle de l'hordénine, alcaloïde isolé par LÉGER (2), en 1906, des racines d'Orge. Les conclusions que nous en tirons ne doivent pas, ainsi que nous le disions plus haut, être séparées de la question d'ensemble que nous nous étions posée, l'étude biochimique de l'hordénine, dont on trouvera par ailleurs l'exposé complet (3).

RAPPEL DE QUELQUES DONNÉES SUR LA LOCALISATION DES ALCALOÏDES

Si l'on excepte les premières tentatives très imparfaites de localisations microchimiques remontant au russe Borscow (4) et à Joannès CHATIN qui fait paraître en 1876 une thèse sur le siège des principes actifs des plantes médicinales, on peut dire que le véritable fondateur de cette technique est ERRERA qui l'a développée en collaboration avec CLAUTRIAU et MAISTRIAU (5). Depuis cette époque, un très grand nombre d'alcaloïdes ont fait l'objet de recherches de localisation; nous ne citerons que celles récentes de J. CHAZE (6) concernant les alcaloïdes du Tabac et de R. REILHES (7) sur l'hordénine que nous étudions dans ce travail même.

La technique générale consiste à utiliser un réactif *précipitant* ou *colorant* du principe actif à localiser; on fait agir ce réactif sur des coupes ou sur des écrasements de l'organe étudié lorsqu'il n'est pas possible de réaliser des coupes. Dans le cas particulier des alcaloïdes, l'existence dans leur molécule d'un atome d'azote tertiaire entraîne la faculté de précipiter par un grand nombre de solutions où entrent des métalloïdes ou des métaux lourds. Ce fait facilite beaucoup leur mise en évidence. L'un des plus utilisés de ces réactifs, que l'on dénomme parfois « réactifs généraux des alcaloïdes », est le réactif iodo-ioduré de Bouchardat ou Wagner-Kippenberger (I : 1 g; IK : 3 g; H²O : 100 g ou formule d'un réactif plus dilué conseillé par ERRERA : I : 0,10 g, IK : 0,30 g; H²O : 45 g).

Ce réactif, comme tous les réactifs généraux d'alcaloïdes, précipite ceux-ci lorsqu'ils sont sous forme de sels en solution aqueuse. On effectue pratiquement la réaction dans un milieu légèrement acidifié par l'acide chlorhydrique ou par l'acide acétique.

Les autres réactifs, également très utilisés, sont celui de Mayer ou de Valser (iodure double de mercure et de potassium) dont nous préciserons plus loin l'emploi, ainsi que le réactif de Dragendorff (iodure double de bismuth et de potassium).

Le principal inconvénient de ces réactifs généraux, et notamment de tous ceux renfermant de l'iode de potassium, est de redissoudre les précipités formés lorsque IK est en excès; pour cette raison, on a modifié leurs formules en les saturant autant que possible en sel du métal lourd.

Les réactions de *coloration*, qui peuvent également servir à la localisation de certaines substances, s'effectuent le plus souvent à l'aide, d'acides concentrés, d'oxydants ou de réducteurs variés.

PRINCIPALES TECHNIQUES UTILISÉES

1. Méthode de différenciation d'Errera.

Les réactifs précipitants ayant l'inconvénient de précipiter non seulement les alcaloïdes, mais encore les matières protéïdiques, ERRERA a préconisé une méthode de différenciation consistant à opérer comparativement la précipitation ou la coloration :

1° Sur l'organe tel quel.

2° Sur un organe aussi semblable que possible au premier, mais préalablement épuisé par immersion pendant un temps variable dans l'alcool absolu ou dans l'alcool tartrique (solution du 1/20^e d'acide tartrique dans l'alcool absolu) ou dans l'alcool chlorhydrique (alcool absolu : 95 cm³; eau distillée : 5 cm³; acide chlorhydrique, dens. = 1,12 : 2 cm³).

D'une façon générale, de nombreux auteurs préfèrent utiliser l'alcool tartrique, mais nous verrons dans le cas de l'hordénine que l'extraction de l'alcaloïde par ce traitement est très imparfaite. Cependant, cette technique, sans aucune modification, a été suivie par de très nombreux auteurs.

2. Utilisation des méthodes de coloration vitale.

A propos de la localisation des alcaloïdes du Tabac, J. CHAZE (6) a tenté d'introduire des méthodes de coloration vitale dont l'origine remonte à PFEFFER (1886), mais dont le développement a fait l'objet de travaux importants de A. GUILLIERMOND depuis 1913. Le but que se propose J. CHAZE est de localiser l'alcaloïde non pas seulement dans un tissu ou une cellule, mais dans telle ou telle partie de cette dernière. On utilise comme colorants vitaux les bleus de crésyle, de toluidine ou de Nil, et surtout le rouge neutre; après examen, on se débarrasse de l'excès de colorant au moyen d'un papier-filtre qui l'absorbe le long de la lamelle, tandis que l'on fait arriver sous celle-ci une goutte de réactif précipitant. En utilisant cette technique, l'auteur a pu caractériser la

nicotine dans de très jeunes vacuoles, tout au début de leur existence, au moment de l'imbibition des grains d'aleurone.

Une remarque s'impose évidemment au sujet de l'utilisation de cette méthode, c'est la vérification de la non précipitation des colorants azotés complexes par les réactifs précipitants des alcaloïdes.

3. Technique personnelle.

a) Choix du réactif précipitant.

Dans le cas de l'hordénine, ainsi d'ailleurs que dans celui d'un grand nombre d'alcaloïdes, l'un des réactifs généraux le plus sensible est l'acide silicotungstique ou réactif de G. BERTRAND (8). Avec l'hordénine, ce réactif donne un précipité blanc crème ne tardant pas à se transformer en aiguilles jaune-chamois.

Dans le cas particulier de la localisation dans un tissu végétal, l'acide silicotungstique, quelle que soit la dilution utilisée, n'est malheureusement guère utilisable, car la destruction de l'organisation cellulaire est toujours très intense, même si l'on fait rapidement l'examen.

Le réactif de Bouchardat a souvent paru l'un des plus pratiques en raison de la coloration brun kermès très visible des précipités. Dans le cas particulier de l'hordénine contenue dans les racelles d'Orge et d'autres plantes, où seuls les écrasements sont possibles, on obtient des précipitations confuses, peu lisibles, et impossibles à reproduire par photographie.

Le réactif de Mayer (iodure double de mercure et de potassium) nous a par contre donné les meilleurs résultats, contrairement aux réactifs de Dragendorf, à l'acide picrique, au sublimé ou à l'acide phosphotungstique, également essayés. Il n'y a aucun intérêt à adopter la modification de Valser : saturation en iodure mercurique ou celle de Tanret : milieu acétique, le précipité fourni par l'hordénine étant, dans tous les cas, soluble dans un excès de réactif. On a reproché au réactif de Mayer de donner des précipités blancs, peu visibles ; dans le cas envisagé, le caractère primitivement amorphe du précipité donne à ce dernier une opacité qui le rend suffisamment apparent par transparence. Nous avons pu ainsi reproduire les figures par microphotographie ; nous nous sommes en effet interdit le simple dessin presque toujours peu objectif dans ce domaine où l'impossibilité de conserver les préparations rend leur reproduction très utile.

b) Méthode de différenciation.

Nous avons essayé tout d'abord la technique d'Errera indiquée plus haut, en utilisant le réactif de Bouchardat, puis celui de Mayer qui convient mieux ici.

Dans un très grand nombre d'essais, où nous avons en particulier prolongé l'épuisement soit avec l'alcool absolu, soit avec l'alcool tartrique, ou encore avec l'alcool chlorhydrique afin de dissoudre plus parfaitement l'hordénine, nous n'avons pas obtenu de résultat satisfaisant. La précipitation apparaît dans les radicules préalablement épuisées comme dans celles traitées directement par le réactif de Mayer. Or, si l'on excepte les cellules de coiffe, la seule région où s'observe un précipité est celle du méristème où se produit l'allongement radiculaire; d'autre part, nous avons dosé l'hordénine dans des stades analogues et étions par conséquent certain de sa présence. Comment expliquer la présence du précipité après traitement extractif?

Il pourrait être dû à des matières protéïdiques accompagnant l'alcaloïde et l'on remarquera que dans ce cas la méthode de différenciation devient inutilisable, d'autant plus que les écrasements d'organes similaires sont toujours difficilement comparables. Comme il n'est pas connu actuellement d'autre technique, il nous a paru nécessaire d'aborder le problème de façon différente.

Nous examinons *in vitro* la solubilité de l'hordénine ou de ses sels vis-à-vis des réactifs qu'ERRERA préconise pour dissoudre l'alcaloïde, quel qu'il soit. Si l'hordénine-base est assez soluble dans l'alcool absolu, le sulfate y est très peu soluble; dans l'alcool tartrique, l'hordénine est faiblement soluble et le sulfate, insoluble. La base est soluble dans l'alcool chlorhydrique où le sulfate n'entre que lentement en solution.

Ces résultats étaient d'ailleurs faciles à prévoir. Les sels d'alcaloïdes sont en général solubles dans l'eau, moins solubles dans l'alcool, et d'autant moins que le titre de celui-ci est plus élevé; ils sont presque insolubles dans l'alcool absolu. Nous avons ainsi observé qu'avec la nicotine l'alcool tartrique donne tout d'abord un *précipité*, qui se redissout, mais très lentement, le tartrate de quinine, par exemple, est rigoureusement insoluble dans l'alcool absolu. On peut faire remarquer que l'alcool absolu du réactif est dilué par l'eau des tissus et que la solubilité des sels d'alcaloïdes se trouve augmentée. Nous objecterons à ceci qu'en raison du grand excès de réactif utilisé (on fait baigner la coupe de l'organe dans un verre de montre contenant le réactif), l'abaissement du titre ne doit pas être bien important. Autre argument pouvant être avancé : la quantité d'alcaloïde renfermé dans la coupe ou dans le fragment d'organe examiné est très petite d'une part et l'insolubilité absolue n'existant pas d'autre part, les questions de solubilité ne doivent guère intervenir. Nous pensons que la réponse à opposer doit distinguer deux cas :

1° On place les coupes sitôt faites dans l'un des réactifs : alcool absolu, alcool tartrique ou alcool chlorhydrique; dans ce cas, les tissus sont largement déchirés, le solvant pénètre facilement et l'alcaloïde a beaucoup de chance d'être dissous. Il sera donc toujours indispensable de s'assurer des conditions de solubilité *in vitro*;

2^o On place un *organe* entier dans le réactif dissolvant et c'est précisément ce que nous sommes obligé de faire dans le cas des radicelles d'Orge que nous avons prises ici comme exemple. L'alcool absolu pénètre difficilement et une étude des conditions d'extraction de l'hordénine nous a conduit à utiliser comme solvant le plus efficace l'eau faiblement acidifiée.

Pour la pratique microchimique, nous utilisons l'eau acidifiée par 5 % d'acide sulfurique où l'alcaloïde libre ou salifié est très aisément soluble. Nous représentons sur la *planche II, fig. A* : un écrasement de radicelle de Millet traitée par le réactif de Mayer. On remarquera, à quelque distance de la coiffe, de longues files de cellules à contenu foncé et renfermant l'hordénine précipitée par le réactif.

Sur la *planche III, fig. B*, nous figurons une radicelle de Millet traitée pendant 12 heures par l'acide sulfurique à 5 %, écrasée ultérieurement entre lame et lamette entre lesquelles on fait aviver le réactif de Mayer. On voit, au bas de la photographie, par la convergence des files de cellules, l'emplacement approximatif de l'extrémité de la racine. Les files de cellules du milieu de la photographie devraient donc être bourrées de précipité comme en A; seules quelques-unes d'entre elles contiennent une précipitation très légère.

Autre technique : La différenciation par la méthode d'Errera, même modifiée, présente toujours l'inconvénient de ne pas s'effectuer sur la même préparation et de rendre pour cette raison les comparaisons difficiles.

Nous avons vu que les précipités fournis par les alcaloïdes à l'aide des réactifs généraux sont solubles dans un excès de ces réactifs. Cette propriété est-elle spécifique? Dans la littérature, on trouve que dans les cas des substances protéidiques également précipitées par les mêmes réactifs, la redissolution se produit également.

Nous avons vérifié ce point avec des matières protéidiques végétales telles que la légumine et l'édestine, mais nous avons constaté qu'à l'aide du réactif de Mayer la redissolution est plus difficile à obtenir que dans le cas des alcaloïdes en général et de l'hordénine en particulier. Nous avons préparé alors un réactif de Mayer *plus dilué* et constaté que, cette fois, les précipités donnés avec la légumine, l'édestine ou l'hordénine (matières protéidiques de l'Orge) ne se redissolvaient plus, même en utilisant un très grand excès de réactif. Au contraire, le précipité alcaloïdique reste très facilement soluble.

Formule du réactif : Iodure mercurique: 0,25 g; iodure de potassium: 5 g; eau : 50 g.

Nous opérons de la façon suivante : une radicelle d'Orge est écrasée entre lame et lamelle et l'on verse sur la préparation une goutte de réactif de Mayer dilué. Après une ou deux minutes, nous prenons une première photographie représentée sur la *planche IV, fig. A*. On y

remarque que l'hordénine est localisée dans les cellules de la portion de la radicule où se produit l'allongement. Ce fait avait déjà été mis en évidence par REILHES (7). Dans la région où les cellules, de forme plus allongée, commencent à se différencier, on ne trouve plus d'alcaloïde. Ajoutons que la répartition apparaît homogène dans le tissu méristématique.

Après avoir abandonné la préparation, soigneusement lutée, pendant deux heures, on prend une seconde photographie. Le précipité alcaloïdique se redissolvant dans l'excès du réactif, on note un effacement partiel (planche V, fig. B).

Enfin, après quatre heures, on prend une troisième photographie et constate l'effacement total dû à la redissolution (planche VI, fig. C).

On peut, en s'aidant de repères, déterminer ainsi de manière exacte la localisation de l'alcaloïde. On remarquera, par ailleurs, sur la planche VII, l'aspect du précipité, très grossi.

RÉSULTATS OBTENUS PAR APPLICATION DE CETTE MÉTHODE

Nous ferons tout d'abord remarquer que tous les examens microchimiques que nous avons réalisés — même ceux négatifs — ont été contrôlés par l'analyse chimique. Appliquant en cela les remarques mentionnées au début de ce mémoire, nous n'utilisons la technique de localisation qu'à titre de méthode accessoire, en vue de la solution d'un problème particulier.

Nous avons suivi en premier lieu l'évolution de l'hordénine dans les radicules d'Orge (*Hordeum vulgare*, L.) en fonction de la durée de germination. L'alcaloïde n'existe pas dans la graine non germée, mais apparaît dès les premiers jours de la germination; il disparaît ensuite après un mois environ, lorsque les expériences sont effectuées à la température de 15-16°.

En second lieu, nous avons voulu nous rendre compte de l'éventuelle dissémination de l'hordénine dans les radicules d'autres plantes de la famille des Graminées. Nous avons examiné un certain nombre de germes d'espèces voisines de l'Orge, ainsi que quelques espèces types des principales tribus de la famille. Nous avons représenté dans le tableau suivant les résultats de ces investigations.

La planche VIII représente une radicule de Blé traitée par le réactif de Mayer, laquelle ne renferme pas trace d'alcaloïde.

La planche IX au contraire représente une radicule d'*Hordeum murinum* où l'on peut remarquer sous l'échancrure du haut de la photo-

graphie une région plus foncée représentant un léger précipité alcaloïdique. Nous avons vérifié chimiquement qu'il s'agissait d'hordénine.

Repartition de l'hordénine dans les Graminées.

Sous-famille.	Espèce.	Hordénine caractérisée chimiquement.	Alcaloïde caractérisé micro-chimiquement.
Triticées	<i>H. vulgare</i> , L.	1 à 5 ‰	+
	<i>H. murinum</i> , L.	Présence	+
	<i>Elymus arenarius</i> , L.	0	incertain
	Blé	0	0
	Seigle	0	0
Festucées	Ray grass	0	0
	Paturin	0	0
	Dactyle	0	0
Chloridées	-----	-----	-----
Oryzées	Riz	0	0
Avenées	Avoine	0	0
	Houque	0	0
	Brome	0	0
Arondinées	Oyat	0	incertain
Stipées	-----	-----	-----
Agrostidées	Agrostis	0	0
Phléinées	Phléole	0	0
	Vulpin	0	0
Phalaridées	Flouve	0	0
Maydées	Maïs	0	0
Panicées	Millet	Prés. 5 ‰	+
Andropogonées	Sorgho	0	incertain

La planche II, A nous montre une radicule de Millet (*Panicum miliaceum* L.) où le précipité est particulièrement net. Nous avons en effet retrouvé l'hordénine dans cette plante d'une manière indépendante, l'alcaloïde n'y avait été signalé qu'une seule fois par un auteur japonais (9).

Par ailleurs, on doit remarquer que l'hordénine, malgré la simplicité de sa constitution chimique, paraît relativement rare chez les Graminées, mais il serait évidemment nécessaire de multiplier les observations.

CONCLUSIONS

Nous avons montré dans ce travail que l'on peut encore tirer un parti intéressant de la technique de localisation des alcaloïdes à condition de l'adapter par une étude préalable au cas particulier à étudier et de ne pas se contenter d'appliquer telle ou telle méthode, aucune d'entre elles n'étant suffisamment générale.

BIBLIOGRAPHIE

1. GORIS (A.). — Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux. Paris, 1914 (Jacques Lechevalier, libraire).
2. LÉGER (E.). — Sur l'hordénine, alcaloïde nouveau retiré des germes, dits touraillons, d'Orge. *C. R. Ac. Sc.*, **142**, p. 108, 1906.
3. RAOUL (Yves). — Contribution à l'étude biochimique de l'hordénine. *Thèse Sciences naturelles*, Paris, 1936.
4. BORSCOW. — Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. *Botan. Zeit.*, **32**, 17 et 33, 1874.
5. ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU. — Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes. *Bull. Soc. belge de Microscopie*, **12**, 5, 1885-86.
Réimprimé. — Recueil Inst. bot. Errera, **2**, 147, 1906.
6. CHAZE (J.). — Contribution à l'étude biologique des alcaloïdes du tabac. *Thèse Sciences naturelles*, Paris, 1931.
7. REILHES (R.). — Sur la localisation de l'hordénine dans les plantules d'Orge, *C. R. Soc. Biol.*, **122**, 852, 1936.
8. BERTRAND (G.). — Sur l'emploi de l'acide silicotungstique comme réactif des alcaloïdes. *Bull. Soc. Chim.*, **21**, 434, 1899.
9. HASHITANI (Yoshitaka). — On the chemical constituents of malt rootlets with special reference to hordenine. *Journ. of the College of Agricult. Hokkaido imp. University*, **14**, 1, 1924.



FIG. A.
Radicelle de Millet + réactif de MAYER $\times 130$.

MASSON et C^{ie}, éditeurs.



FIG. B.
Radicelle de Millet épuisée par SO^4H^2 à 5 0/0 + réactif de MAYER $\times 130$.



FIG. A.

Radicelle d'Orge + réactif de MAYER dilué.

Photographie immédiate $\times 130$.

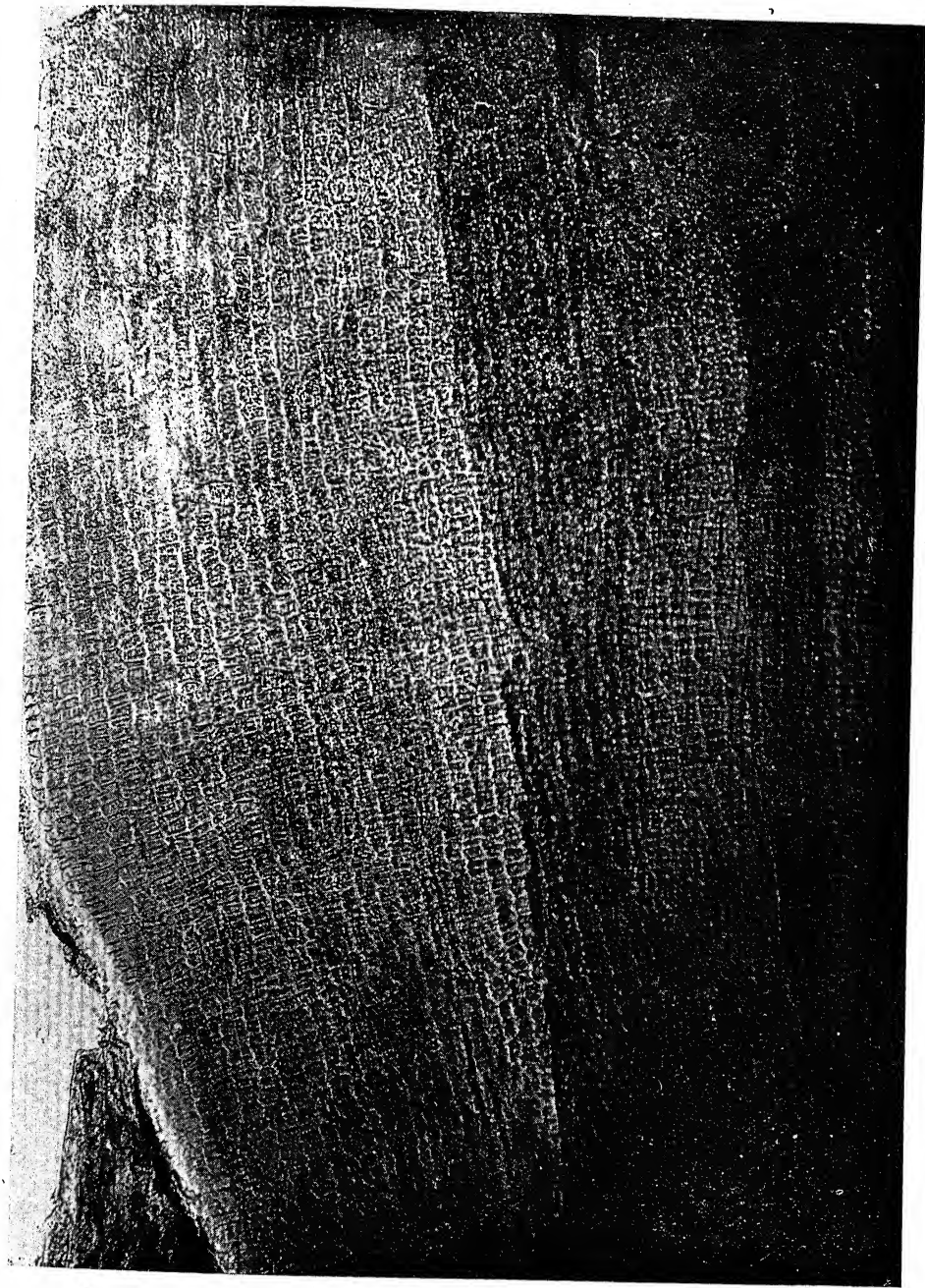


FIG. B.
Radicelle d'Orge + réactif de MAYER dilué.
Photographié 2 heures plus tard $\times 130$.

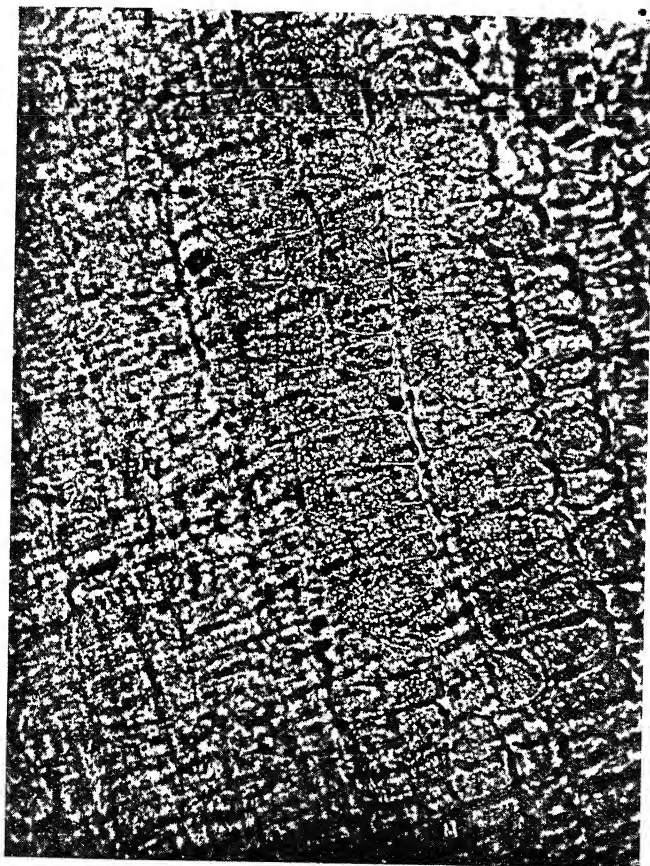




FIG. C.

Radicelle d'Orge + réactif de MAYER dilué.

Photographié 4 heures plus tard $\times 130$.

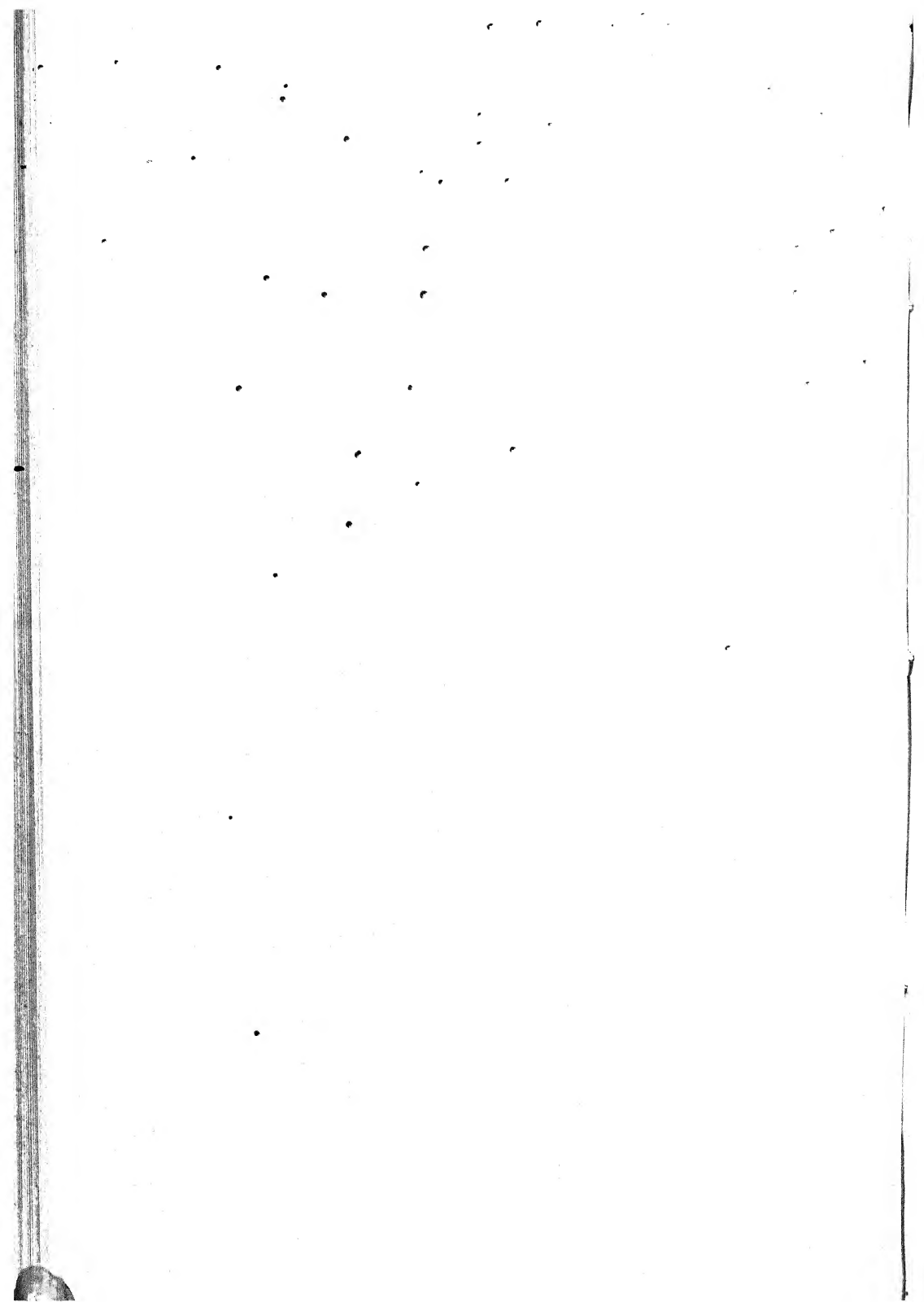


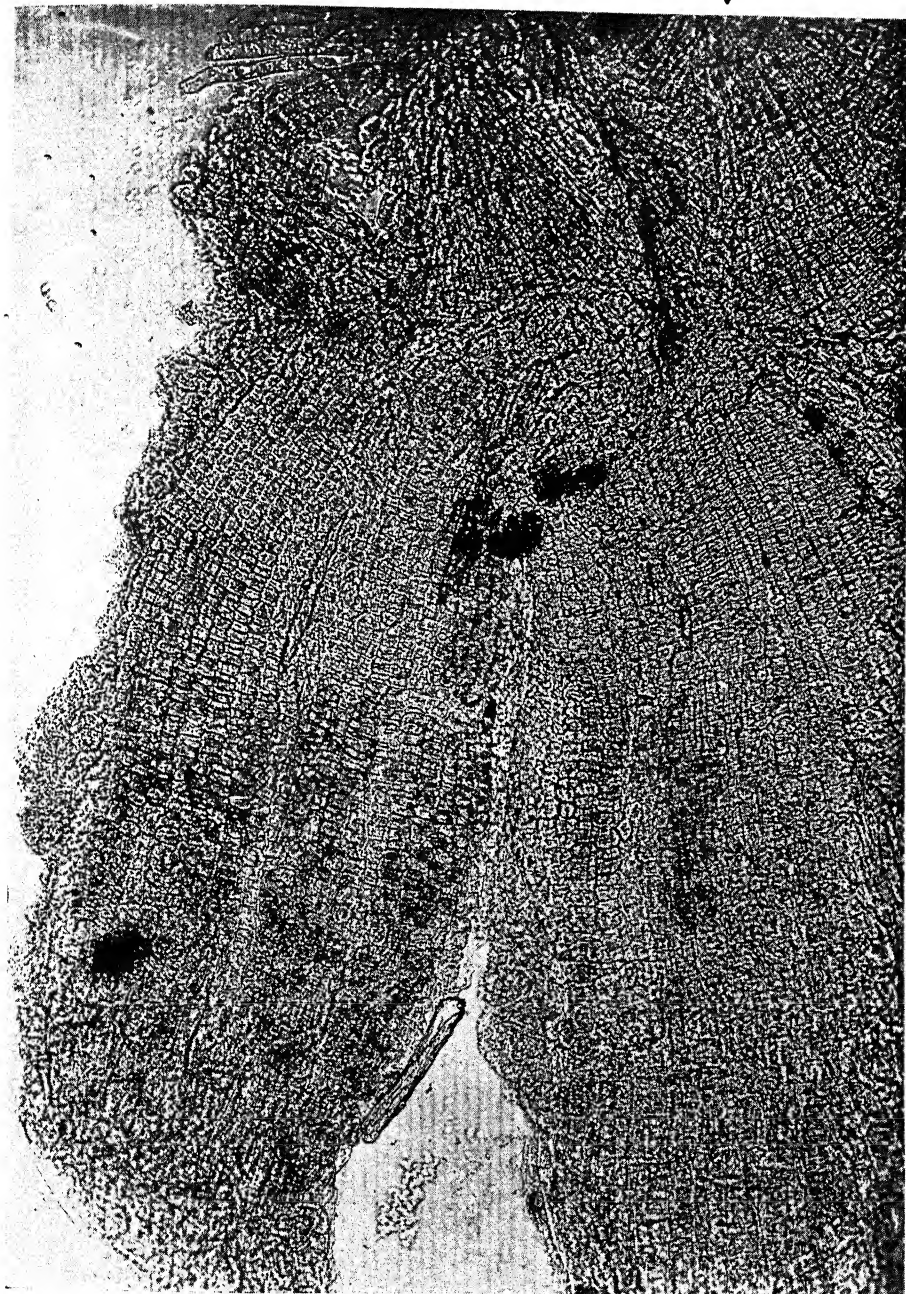
Radicelle d'Orge.
Précipité alcaloïdique $\times 800$.



Radicelle de Blé + réactif de MAYER.

Absence d'alcaloïde $\times 130$.





Radicelle d'*Hordeum murinum*.
Précipité $\times 130$.

Au début, les fleurs cléistogames furent considérées comme de simples bourgeons arrêtés dans leur évolution. C'était l'opinion d'ASA GRAY et aussi de DARWIN, mais ce dernier, conformément à sa manière de voir, bien qu'admettant l'arrêt du développement pensa aussi que la structure des fleurs cléistogames représenterait un état modifié en rapport avec la biologie spéciale qui incombe à ces fleurs nécessitant la protection du pollen et l'autofécondation. A l'appui de sa théorie il attire surtout l'attention sur la forme du style, lequel est plus court et recourbé dans les fleurs cléistogames alors que dans les fleurs chasmogames il est droit.

LECLERC DE SABLON a publié, en 1900, un important mémoire sur cette matière. Il adopte la théorie de l'adaptation et voit dans le fait (qu'il découvre) que les grains de pollen germent dans les anthères des fleurs cléistogames un des caractères biologiques des plus importants. Il constate aussi que l'assise sous-épidermique des fleurs cléistogames, ornée, dans les fleurs chasmogames, d'épaississements lignifiés en vue de la déhiscence, conserve jusqu'à la maturité du grain de pollen son protoplasme et son noyau et ne se lignifie pas. Au sommet de l'anthère les cellules ont un protoplasme épais et constituent un « tissu conducteur ».

GEBEL, en 1904, reprend la thèse de l'arrêt dans le développement et insiste surtout sur l'apparition des deux sortes de fleurs dans le temps. D'après lui, les fleurs cléistogames sont toujours les premières, même chez les *Viola*, car les fleurs chasmogames qui se montrent au début du printemps sont ébauchées au cours de l'année précédente. Cet auteur rejette l'interprétation de LECLERC DE SABLON, quant à la germination du grain de pollen et l'assise mécanique. Il a vu, en effet, que les fleurs cléistogames et chasmogames de *Viola* ne montrent, sous ces rapports, aucune différence. Le prétendu tissu conducteur existe aussi bien chez les fleurs chasmogames que chez les fleurs cléistogames et n'est autre chose que le tissu correspondant à la ligne de déhiscence des sacs polliniques. GEBEL montre aussi, qu'au début de son développement, le style des fleurs chasmogames est droit; celui des fleurs cléistogames doit sa forme à un arrêt du développement à un stade jeune, ce qui va contre la conception de DARWIN.

C'est à GEBEL encore que l'on doit les premières recherches expérimentales au sujet des causes pouvant provoquer l'apparition des fleurs cléistogames. Ce savant attache une très grande importance à l'influence des conditions nutritives. Il a observé, par exemple, que des individus d'*Impatiens noli-tangere* croissant dans des conditions ordinaires, ne portent que des fleurs cléistogames, alors que des plantes-témoins cultivées comparativement et bien nourries portent des fleurs chasmogames. Inversement, des individus ayant porté des

fleurs chasmogames, mis dans des conditions de milieu défavorables à leur développement laissent flétrir leurs boutons chasmogames et forment des fleurs cléistogames. L'influence de la nutrition est donc certaine. D'après GEBEL, l'apparition des fleurs cléistogames serait déterminée par l'impossibilité qu'aurait la plante d'absorber certaines substances organiques en quantité et en qualité suffisantes, du fait de l'insuffisance du développement de l'appareil racinaire. Ce serait aussi la raison pour laquelle les fleurs cléistogames apparaissent les premières.

VOCHTING, par contre, attribue une influence prépondérante à la lumière. Il a pu empêcher la chasmogamie, c'est-à-dire l'ouverture des fleurs normales, de *Stellaria media* et de *Lamium purpureum* en cultivant ces espèces à l'ombre.

GRAEBNER attribue la production des fleurs cléistogames à de hautes températures. Il a observé que des plants de *Viola* transportés dans une serre chaude ne forment plus que des fleurs cléistogames. GEBEL répond à ces remarques que l'action de la chaleur et de la lumière, en se faisant sentir sur toutes les parties de la plante modifient certainement la nutrition et que sa façon de voir n'en est pas infirmée.

BURK (1906) ne partage pas l'opinion de GEBEL au sujet de l'apparition chronologique des fleurs cléistogames et chasmogames. Il cite des cas où les premières apparaissent certainement après les fleurs chasmogames ou en même temps. Il croit nécessaire de faire une grande différence entre les plantes cléistogames dont les graines donnent des plantes cléistogames et les espèces pseudo-cléistogames dont les graines donnent des individus chasmogames. Il note, en outre, l'existence d'espèces exclusivement cléistogames pour lesquelles, par conséquent, il ne peut-être question de cléistogamie par arrêt du développement. Il cite les Anonacées et certaines Orchidées dont les fleurs cléistogames sont identiques à des fleurs chasmogames avec la seule différence qu'elles ne s'ouvrent pas.

BURK considère la floraison chasmogame comme une rareté chez les plantes cléistogames et le pouvoir de donner des fleurs cléistogames comme héréditaire et non soumis aux conditions extérieures.

D'après lui, les plantes cléistogames sont des mutants. Les fleurs d'une plante peuvent rester fermées sous l'influence d'une mutation. Dans ce cas, elles sont identiques aux fleurs chasmogames, sauf qu'elles ne s'épanouissent pas.

La persistance ou la disparition des mutants dépendrait de l'aptitude de la plante à l'autogamie. Seuls peuvent subsister et se multiplier les mutants pour lesquels ce mode de fécondation est plus avantageux.

Le même auteur examinant le cas des fleurs cléistogames vraies où il y a non seulement fermeture, mais souvent aussi avortement de certaines parties, propose de séparer les deux phénomènes de la fermeture des fleurs et de la réduction morphologique.

Il y aurait lieu d'y voir deux mutations successives, l'une donnant des races intermédiaires à petites fleurs fermées, l'autre transformant celles-ci en fleurs cléistogames vraies. Et dans certaines espèces de *Viola* (*Viola biflora*, *Viola sylvatica*) on a trouvé de petites fleurs chasmogames, ce qui confirmerait cette hypothèse.

LOEW (1906) ne veut pas considérer comme cléistogames les plantes dont les fleurs sont complètes mais simplement fermées, car il montre que chez certaines d'entre elles il peut y avoir, malgré la fermeture, fécondation croisée, assurée, par exemple, par les fourmis, les Colibris. Les deux sortes de fleurs, cléistogames et chasmogames, auraient la même signification pour la conservation de l'espèce, soit par allogamie, soit par autogamie, et ce seraient uniquement les conditions extérieures qui régleraient la prédominance de l'une ou de l'autre. La forme cléistogame ne serait pas une mutation, mais une variation provoquée par les conditions extérieures.

B. — Recherches personnelles.

Bien que nous ayons surtout en vue l'étude des particularités cytologiques, nous croyons intéressant de rapporter ici quelques observations sur la structure des fleurs de *Viola odorata*.

Les coupes faites dans de très jeunes boutons floraux chasmogames et cléistogames montrent qu'au début le développement est identique. La seule différence est que dans les fleurs cléistogames les ovules sont déjà formés, lorsque, dans la fleur chasmogame, il n'y a encore qu'un amas cellulaire indiquant où ils apparaîtront. Cette identité de structure semble donner raison à GEBEL, lequel affirme que les fleurs cléistogames sont des fleurs arrêtées dans leur développement. Nous verrons plus loin ce que nous croyons être la vérité.

Remarquons encore, en ce qui concerne le gynécée, que l'ovaire des Violettes n'est jamais complètement fermé. Le style est toujours ouvert. Les trois carpelles, qu'il s'agisse des fleurs cléistogames ou chasmogames forment un tube creux recouvert extérieurement et intérieurement d'un épiderme distinct. Si cet ovaire était plus largement ouvert on pourrait parler de Gymnospermie. Il y a là une indication intéressante sur laquelle nous nous proposons de revenir.

Des sections transversales d'anthères mûres de fleurs chasmogames montrent très nettement la germination des grains de pollen. GEBEL

avait donc raison de ne pas voir dans ce fait un caractère propre aux fleurs cléistogames, comme l'avait cru LECLERC DU SABLOŃ.

L'objection que GÖBEL fait au sujet de l'assise mécanique est également justifiée, car l'assise mécanique existe dans les anthères des fleurs cléistogames de *Viola odorata* comme dans les fleurs ordinaires.

GÖRCZYŃSKI, dont nous résumerons plus loin les recherches (chapitre II), signale sur les bords des pétales et des sépales des fleurs cléistogames des poils sécréteurs dont les cellules ont un protoplasme abondant. Nous avons revu ces mêmes poils dans les fleurs chasmogames et observé qu'ils existent aussi parfois sur le pédoncule floral. Leur forme est particulière. Leur extrémité est constituée par un massif de cellules disposées en rangées concentriques formant une sorte de boule. Celle-ci termine une hampe de longueur variable suivant l'endroit où se trouve le poil. La hampe est formée généralement de trois files de cellules.

Plus importants nous paraissent les très nombreux poils épidermiques qui garnissent l'ovaire des fleurs cléistogames extérieurement. Ces poils sont de grande taille et formés d'une seule rangée de cellules avec un protoplasme abondant.

Ils augmentent beaucoup de taille et remplissent entièrement la cavité qui sépare le style des sacs polliniques en y formant une sorte de faux tissu. Nous y voyons un dispositif permettant au grain de pollen qui germe en dehors du stigmate, de parcourir sans danger de dissécation l'espace entre l'anthère et le gynécée.

ÉTUDES CYTOLOGIQUES

A. — Historique.

Un certain nombre de recherches cytologiques ont déjà été entreprises sur le genre *Viola*, en particulier sur *Viola odorata*. La plupart d'entre elles étaient consacrées à l'étude des fleurs cléistogames. GÖRCZYŃSKI a publié un travail très détaillé sur les fleurs cléistogames de *Viola odorata*. Il trouve un nombre haploïde de chromosomes égal à 10 et signale, à la formation des diades, l'apparition de noyaux nains. La deuxième division se poursuit, dans certains cas, d'une manière anormale donnant des noyaux à 5 chromosomes. Cet auteur constate aussi dans le protoplasme du grain de pollen la formation d'énormes quantités d'amidon. Le tube pollinique se rend par le chemin le plus court au stigmate. Le sac embryonnaire se forme normalement; néanmoins il dégénère souvent dans les stades les plus jeunes.

Miss WEST, dans son mémoire intitulé « Cleistogamy in *Viola Riviniana* with special reference to its cytological aspects » expose tout d'abord ses observations sur la morphologie des fleurs chasmogames, semi-cléistogames et cléistogames. Elle constate que les fleurs semi-cléistogames montrent toute une série de formes intermédiaires entre les fleurs cléistogames et chasmogames.

Au point de vue cytologique, elle signale chez les fleurs cléistogames un nombre de chromosomes égal à 20; le spirème est toujours réuni au nucléole, les chromosomes bivalents sont réunis entre eux dès les premiers stades de la diacinèse. On trouve des corps cristallins dans le nucléole.

Miss MADGE, dans son mémoire intitulé « Spermatogenesis and fertilization in *Viola odorata* » s'occupe surtout de la germination et de la dégénérescence des grains de pollen de *Viola odorata*. Cet auteur étudie aussi le développement des cellules-mères dont les premiers stades sont tout à fait normaux jusqu'à la division homéotypique qui se passe très rapidement. Miss MADGE a compté un nombre haploïde de chromosomes égal à 10. Elle a trouvé de jeunes anthères contenant dans le même sac des grains de pollen mononucléés et des cellules-mères au stade à 4 noyaux. Les grains de pollen, dès leur formation, ont une membrane très irrégulière. Beaucoup dégèrent et leur membrane est remplacée par de nombreux globules colorables en noir par l'hématoxyline. Le noyau se divise et le grain de pollen prend une forme circulaire avec 3 cannelures; il est rempli de protoplasme vacuolisé. Miss MADGE a constaté que ces grains qui germent dans les fleurs cléistogames se transforment encore pour germer dans les fleurs chasmogames. La dégénérescence d'un certain nombre de grains se produit à tous les stades de la germination.

Il nous a paru intéressant d'étudier les fleurs chasmogames de *Viola odorata* et de rechercher s'il n'y avait pas une raison cytologique à leur stérilité, qui viendrait s'ajouter aux raisons morphologiques.

B. — Matériel et technique.

Tout le matériel employé dans ces recherches provient du Jardin des Plantes de Montpellier où il y a de belles stations de *Viola odorata*. Pour étudier la réduction chromatique il faut prendre des boutons floraux très jeunes, de 1 à 2 mm. de longueur. Les grains de pollen sont, en effet, tout formés dès que le bouton atteint environ 3 mm. Nous avons trouvé des boutons avec des grains de pollen dès la fin novembre, alors que les fleurs chasmogames ne se sont épanouies dans la même station que fin janvier. C'est à cette époque que des

fleurs ont été recueillies pour suivre la germination des grains de pollen qui a lieu dans l'anthère, ainsi que l'on sait.

Les fixations ont été faites à des heures différentes de la journée. Les fixateurs employés peuvent être classés en deux groupes, suivant les résultats que leur emploi nous a donnés; le premier comprend les fixateurs contenant de l'acide acétique (Bouin, Flemming, Bataillon, Navachine), l'autre les fixateurs de Helly et de Regaud. La composition et le mode d'emploi de ces différents fixateurs sont trop connus pour qu'il soit utile de les reproduire ici. Nous nous contenterons de donner la formule du fixateur de Navachine :

Acide chromique en solution à 1 %.....	10 cm ³
Formol.....	4 cm ³
Acide acétique.....	1 cm ³

On ne doit faire le mélange qu'au moment de l'emploi; la fixation dure de 12 heures à 24 heures, puis on lave rapidement. Pour faciliter la pénétration du fixateur on chasse l'air contenu dans le matériel à l'aide d'une pompe à vide. Les objets fixés sont inclus à la paraffine suivant la méthode ordinaire. Les coupes ont été faites d'une épaisseur de 6 μ , lorsqu'il s'agissait d'étudier le noyau, de 3 μ pour les objets fixés au Regaud.

Diverses colorations ont été employées :

- a) Fuchsine acide différenciée au vert de méthyle;
- b) Hématoxyline ferrique;
- c) Bleu de toluidine différencié par l'éosine alcoolique;
- d) Fuchsine basique (Méthode de Feulgen). Cette méthode qui donne de très bons résultats avec les objets qui ont été fixés par un fixateur sans acide mérite d'être exposée en entier. Voici les différentes phases opératoires que nous avons suivies :

1. Plonger les coupes dans une solution normale de Cl H à froid pendant 1 minute;
2. Mettre les coupes dans une solution normale de Cl H à chaud (40°) et les y laisser pendant un temps variant de 15 minutes à 4 heures;
3. Passer les coupes dans Cl H normal à froid;
4. Laver à l'eau distillée;
5. Mettre les coupes pendant un temps variant de 1 heure à 4 heures dans un tube rempli de *réactif de Schiff* (1) et recouvert de papier noir pour empêcher l'action de la lumière.

(1) Le réactif de *Schiff* se prépare de la façon suivante : a) dissoudre à chaud 1 gr. de fuchsine basique dans 200 cm³ d'eau; b) filtrer et ajouter 20 cm³ de solution normale de Cl H; c) refroidir et ajouter 1 gr. de bisulfite de Na desséché. Le réactif doit devenir incolore et être conservé dans un flacon à l'obscurité.

6. Laver les coupes dans trois flacons contenant une solution de 10 cm^3 de bisulfite de Na, liquide commercial, 10 cm^3 de Cl H normal dans 200 cm^3 d'eau;
7. Laver assez longtemps à l'eau courante;
8. Colorer 30 secondes au vert lumière à $0 \text{ gr. } 25 \text{ }_0$;
9. Monter au baume suivant la méthode ordinaire.

On voit par l'exposé ci-dessus que l'on peut faire varier la durée d'action des diverses solutions entre des limites très larges. Une des difficultés de la méthode de Feulgen réside en ce qu'il faut trouver la durée de traitement exacte, propre au matériel utilisé.

En ce qui concerne notre étude, les durées les plus favorables ont été de 30 minutes pour l'hydrolyse dans l'étuve à 56° . 2 heures pour le réactif de Schiff. Les masses de chromatine apparaissent en rouge-violacé. Selon G. ARCHAMBAULT, cette teinte serait due à une influence du vert-lumière sur la fuchsine. Nous avons cru remarquer qu'elle apparaissait ou disparaissait en un même endroit en faisant varier très légèrement la mise au point. Le nucléole est coloré comme le protoplasme par le vert-lumière.

Signalons aussi la méthode de la goutte pendante qui permet de fixer et colorer rapidement le matériel. On peut ainsi suivre l'évolution de certains organes et n'employer les fixateurs et les colorants décrits ci-dessus qu'au moment intéressant. Voici comment nous avons opéré. Dans une goutte d'eau posée sur une lame on dissèque un sac pollinique, on retourne la lame sur un petit cristalloir contenant du formol pendant une vingtaine de minutes; on laisse dessécher la lame, puis on traite par le collodion. On colore avec du bleu de toluidine, ainsi qu'il a été dit.

Des observations vitales ont été aussi tentées pour essayer de contrôler l'action des divers fixateurs, en particulier des réactifs acides. Nous avons disséqué des sacs polliniques dans une goutte de saccharose à $7,5 \text{ }_0$ employé avec succès par GUILLIERMOND dans ses recherches sur le chondriome; le tout était placé entre lame et lamelle. Un morceau de papier buvard placé d'un côté de la lamelle attirait le liquide isotonique et permettait à une goutte de fixateur placée de l'autre côté de pénétrer par capillarité dans la préparation.

C. — Recherches personnelles.

Nous exposerons dans ce chapitre les observations faites sur la mitose somatique dans les organes en croissance, et nous ferons une comparaison entre les noyaux en interphase et les noyaux au repos. Nous verrons ensuite comment se déroule la méiose.

a) **La mitose somatique.** — La mitose somatique a été étudiée dans des sections à travers l'extrémité des sépales et des pétales des boutons floraux. Les organes y sont en état de croissance active et montrent de nombreuses figures de caryocinèse.

Avant d'exposer le processus de la mitose, il faut faire une comparaison entre le noyau en interphase et le noyau au repos. Celui-ci se présente avec une membrane bien définie et renferme un ou plusieurs gros nucléoles. On aperçoit à son intérieur des corpuscules chromatiques assez petits (fig. 2, planche X). Le noyau en interphase au contraire (fig. 1 et 3, planche X) possède une membrane peu apparente; les nucléoles, quand ils existent, sont assez difficiles à distinguer des nombreuses masses chromatiques qui remplissent la cavité nucléaire.

Ces masses chromatiques ont une forme et une taille très variables et sont constituées de chromatine puisqu'elles fixent la coloration de la fuchsine basique de Feulgen que ne prend pas le nucléole. On ne peut cependant pas considérer ces corpuscules comme des chromosomes vrais vu leur nombre et leur forme.

Ce sont des prochromosomes.

Au moment de la prophase, ces éléments dont plusieurs se sont certainement fusionnés, forment au centre du noyau une pelote de corps filamenteux qui sont évidemment les chromosomes (fig. 6, planche X); il est impossible à ce moment de les compter et de voir s'ils sont déjà clivés.

Puis ces corps se raccourcissent et se contractent en petites boules pour former une plaque équatoriale très nette. Les nucléoles ont entièrement disparu (fig. 4, planche X). C'est à ce stade que nous avons pu compter 20 chromosomes. A la métaphase on voit apparaître, dans les préparations traitées par les fixateurs acides, un fuseau très net dont on ne trouve aucune trace après fixation par le Helly. Il est difficile de préciser la façon dont s'opère le clivage des chromosomes, mais nous avons vu une figure qui semblerait indiquer qu'il commence par une extrémité. Après leur séparation, les deux masses de chromosomes se dirigent chacune vers un pôle (fig. 5-8-10, planche X). Le processus de la télophase est exactement identique à celui de la prophase. On voit réapparaître dans chaque noyau fils les masses filamenteuses (fig. 10, planche X). Ces filaments se relâchent de plus en plus (fig. 11, planche X), et bientôt deux nouvelles cellules sont formées dont les noyaux renfermant les masses chromatiques que nous avons signalées au début. Les nucléoles ont réapparu (fig. 12, planche X).

b) **La mitose réductrice dans les cellules-mères des grains de pollen** (planches X-XI). — Dans les sacs polliniques les cellules-mères des grains de pollen ont une forme polygonale et sont fortement serrées. Leurs

membranes sont peu apparentes. Ces cellules possèdent un gros noyau à structure réticulée avec épaississements rappelant les pro-chromosomes (fig. 13, planche X). Cette structure est surtout très nette dans les préparations colorées suivant la méthode de Feulgen ou le réticulum apparaît en rouge avec ses nœuds légèrement épaissis. Ces cellules possèdent généralement un seul nucléole très gros présentant des vacuoles nombreuses disposées régulièrement et, semble-t-il, en cercles concentriques. Dans certains cas il a été vu des cellules-mères avec plusieurs corps nucléolaires (fig. 14, planche X). Les corps cristallins signalés par M^{lle} WEST dans le nucléole de *Viola Riviniana* n'ont pas été vus dans les cellules-mères de *Viola odorata*, mais nous les avons trouvés dans le nucléole des jeunes grains de pollen.

Au début de la méiose, les cellules commencent à se séparer les unes des autres et à prendre une forme triangulaire. Les nœuds du réseau s'épaississent, puis les trabécules les réunissant se rompent en certains points. On a, à ce moment, des filaments plus épais que ceux du réseau et apparemment disposés sans ordre (fig. 16, planche X). Ils se rassemblent vers une portion du noyau. Ces filaments s'épaississent et se resserrent de plus en plus pour former enfin un « nœud synézétique » (fig. 19-20, planche X). Ce nœud peut renfermer à son intérieur le nucléole ou bien se trouver au pôle opposé à celui occupé par le nucléole. Néanmoins de fins tractus réunissent le nucléole au nœud synézétique. Il est important de noter que dans les préparations fixées avec les fixateurs contenant de l'acide (Bataillon, Flemming, Bouin) le nucléole est toujours en contact très étroit avec le nœud synézétique. C'est un peu avant l'apparition de ce stade qu'il faut signaler la fusion fréquente de deux nucléoles (fig. 17-18, planche X). A ce moment la membrane nucléaire existe toujours et les cellules tendent à prendre une forme circulaire.

Un peu plus tard la membrane nucléaire s'estompe et le nœud synézétique a l'air de se dissocier (fig. 21, planche X) pour arriver au stade suivant où la membrane nucléaire a complètement disparu. Les chromosomes sont alors disséminés dans toute la cellule (fig. 22, planche X). Le nombre le plus fréquemment trouvé est 14; il est aussi parfois de 15. A ce moment le nucléole a complètement disparu. Un phénomène inverse du précédent se produit alors; les chromosomes se rassemblent en une masse chromatique ayant l'aspect d'une petite mure d'un beau rouge vif dans les préparations colorées au Feulgen (fig. 24, planche X). Cette masse s'étale ensuite (fig. 23 et 24). La plaque équatoriale se divise alors en deux et chacune de ses parties va se diriger vers un des pôles de la cellule. Nous devons faire ici une comparaison entre les préparations fixées avec des fixateurs à acides et celles fixées au Helly. Dans les dernières les petites boules représentant les chromosomes sont très serrées les unes contre les autres, et il est parfois assez difficile de les distinguer. D'autre part,

il n'y apparaît pas de fuseau. Par contre, dans les préparations traitées par le Bataillon, le Flemming, le Borin, les chromosomes sont bien individualisés et un fuseau très net apparaît. On remarque aussi à ce stade deux chromosomes aberrants placés symétriquement de chaque côté de la plaque équatoriale.

Lorsque les chromosomes arrivent à chacune des extrémités de la cellule deux cas peuvent se présenter :

1° Le matériel nucléaire se désagrège et il se forme deux nouveaux noyaux réticulés dans lesquels apparaissent un ou plusieurs nucléoles (fig. 28-29-32, planche XI);

2° Les chromosomes arrivés aux pôles subissent une nouvelle division, homéotypique cette fois, et dans les cellules-mères on voit 4 noyaux avec une structure réticulée et un nucléole. Nous retrouvons encore ici le fuseau dans les préparations traitées par les fixateurs à acides (fig. 30-33-34, planche XI). Nous pensons que ces deux processus correspondent aux deux sortes de grains de pollen observées plus tard. Ceux dont la division est limitée à la cinèse hétérotypique seraient ceux qui dégénèrent.

L'ensemble des faits que nous venons d'exposer conduit à un certain nombre de remarques.

1° La question du fuseau. Au cours du chapitre sur la technique nous avons classé les fixateurs en deux groupes : ceux qui renferment de l'acide et ceux qui n'en contiennent pas; nous avons vu dans nos recherches sur les divisions somatiques et réductionnelles que les premiers provoquent à la métaphase l'apparition d'un fuseau.

De nombreux cytologistes s'élèvent contre la réalité de l'existence des fibres fusoriales.

EICHHORN en particulier, dans sa thèse dit : « Nous admettrons donc que l'apparition provoquée des fibres fusoriales est le résultat d'une action nocive des fixateurs ». Et il cite à l'appui de sa théorie, une expérience de LEWIS où l'on provoque l'apparition d'un fuseau à volonté en acidifiant un milieu de culture de tissus vivants; on le fait disparaître à volonté aussi en neutralisant. Nous avons essayé de réaliser la même expérience dans des observations vitales, selon la méthode que nous indiquons. L'arrivée du fixateur provoque dans les cellules la précipitation des micelles colloïdales du protoplasme mais le fuseau ne semble pas pouvoir être assimilé à un artefact depuis que CHAMBERS par la microdissection a pu montrer la réalité de l'existence d'une matière fusoriale. Et un fait primordial qui paraît apporter la preuve de l'existence du fuseau c'est que l'on ne voit dans l'espace qu'il occuperait aucun composant cytoplasmique.

2° Le nombre des chromosomes au cours de la mitose somatique. Nous avons signalé que le nombre des chromosomes était égal à 20. Nous nous empressons d'ajouter que par suite de l'extrême petitesse

du noyau somatique et de l'enchevêtrement du matériel chromatique, nous n'avons pu compter les chromosomes avec précision que deux fois. En comparant dans une coupe les noyaux somatiques et en méiose nous avons reconnu 20 chromosomes dans le noyau somatique et 14 dans la méiose. Si le premier nombre (20) s'accorde avec ce qui a été trouvé par GORCZYNSKY dans la réduction chromatique des fleurs cléistogames, le second est totalement différent. Pourtant, nous avons vu 14 ou 7 chromosomes à plusieurs reprises.

Comment expliquer cette anomalie ?

Nous pouvons faire appel à la théorie de DARLINGTON et MOFFET adoptée aussi par MIEDZYRZECKI dans son étude sur la stérilité des grains de pollen de certains pommiers. Ces auteurs montrent comment on peut faire dériver le nombre $n = 17$ de $n = 7$ qui serait la garniture ancestrale.

Dans le cas qui nous occupe la garniture ancestrale est $n = 5$, nombre qu'a trouvé parfois GORCZYNSKI.

Nous représenterons les 5 chromosomes par A, B, C, D, E, le nombre somatique $2n = 20$ proviendrait de ce que les *Viola odorata* étudiées sont des mutants tétraploïdes. Pour expliquer le nombre $2n = 14$ que nous avons trouvé dans la méiose des fleurs chasmogames, nous sommes autorisés à émettre l'hypothèse que 4 chromosomes sont triplés et un doublé, ce qui donnerait l'arrangement A A A, B B B, C C C, D D D, E E = 14.

Ce phénomène se produirait au stade du nœud synézétique.

Ce qui nous inciterait à accepter cette explication, c'est le fait qu'au stade de l'anaphase on voit deux chromosomes aberrants qui représenteraient celui de la garniture ancestrale qui a été seulement doublé.

MIEDZYRZECKI démontre que les noyaux triploïdes sont stériles dans les grains de pollen des Pomoïdés. Nous pensons que l'on peut voir dans le même phénomène une raison de la stérilité du pollen, des fleurs chasmogames de *Viola odorata*;

3° Nous avons signalé la disparition du nucléole à la métaphase de la réduction chromatique. Que devient-il alors ? C'est la question que se sont posée de nombreux savants. Certains ont essayé de démontrer qu'il entrait dans la constitution des chromosomes. Des expériences ont été faites dans ce sens par LENOIR et VAN CAMP.

Le premier de ces auteurs avait mis au point une technique de double coloration qui voulait montrer dans les chromosomes la part provenant du réseau et la part provenant du nucléole. Mais EICHORN a combattu cette théorie et montre que les colorations employées n'étaient pas assez sélectives.

D'autres auteurs ont pensé qu'au moment de la métaphase le nucléole se répandait dans le cytoplasme. C'est à cette façon de voir

que se rallie Miss WEST dont nous avons signalé le travail sur les fleurs de *Viola Riviniana*.

De notre côté nous avons vu dans des coupes colorées à la fuchsine acide de petites granulations rouges qui pourraient être dues à la dispersion du nucléole puisque celui-ci était coloré en rouge avant sa disparition. Nous ne croyons pas qu'il en soit ainsi, mais bien qu'il s'agit plutôt de composés vacuolaires que colore la fuchsine. Ces composés vacuolaires existent en assez grande quantité dans d'autres cellules où le nucléole existe encore.

c) **L'assise nourricière ou tapis des grains de pollen.** — Le tapis joue un rôle très important dans la nutrition des microspores. Celui des fleurs chasmogames de *Viola odorata* peut être classé dans la catégorie des tapis sécréteurs, car nous n'avons jamais vu ses cellules s'insinuer entre les grains de pollen, comme c'est le cas pour les tapis dits amiboïdes.

Le tapis chez *Viola odorata* commence à s'individualiser alors que les cellules-mères des grains de pollen n'ont pas encore commencé leur division réductionnelle. A ce moment on voit autour des sacs polliniques plusieurs rangées de cellules différentes de celles qui les entourent. Vers l'intérieur sur un ou deux rangs de grandes cellules presque rectangulaires avec 1, 2 ou 3 noyaux; derrière viennent deux rangs de cellules très allongées épousant la forme du sac pollinique.

Au moment où les cellules-mères en sont au stade du nœud synézetique les grandes cellules de l'intérieur ont encore augmenté de taille, tandis que celles qui sont allongées ont l'air de se resserrer de plus en plus. Les grandes cellules se détachent de la paroi du sac, phénomène que Paul JAEGER attribue à l'augmentation de volume de celui-ci.

Plus tard encore, au stade de la tétrade, les cellules internes du tapis sont très grandes et sur une seule rangée. Elles présentent généralement un seul noyau dans lequel on voit plusieurs nucléoles. Les deux couches externes ont complètement dégénéré.

Enfin, à mesure que grossissent les grains de pollen et jusqu'au moment où ils germent, les cellules du tapis diminuent de volume pour ne former finalement qu'une couche très mince de cellules allongées et presque vides contre l'assise mécanique.

d) **La formation de la membrane des grains de pollen.** — Entre les 4 noyaux que nous avons vu s'individualiser au cours de la réduction chromatique ne tarde pas à apparaître une membrane délimitant les 4 grains de pollen. Il nous a semblé que ces membranes se forment de l'extérieur vers l'intérieur, à partir de la membrane de la cellule-mère (fig. 34, planche XI). Les microspores sont bientôt individualisées tout en restant à l'intérieur de la cellule-mère. Mais l'on voit que le

protoplasme de celle-ci est vide de tout constituant cytoplasmique, tandis que celui des jeunes grains de pollen est granuleux (fig. 35-36, planche XI).

Ces grains de pollen se séparent enfin les uns des autres et présentent un aspect assez particulier (fig. 37, planche XI). Leur membrane est toute fripée et bosselée. Ils possèdent un seul gros noyau avec un nucléole. A partir de cet instant ils évoluent vers une forme qui paraît être la forme de repos, car nous l'avons trouvée dans des boutons floraux dès le mois de novembre (fig. 38, planche XI).

La paroi est assez épaisse et creusée de trois larges sillons. Une grosse vacuole qui occupe tout le centre a rejeté tout le protoplasme à la périphérie. Le noyau lui aussi est appliqué contre la paroi du grain de pollen.

e) Germination des grains de pollen. — Au fur et à mesure que la fleur chasmogame se développe les grains de pollen se transforment eux aussi. La vacuole centrale se divise en plusieurs, et le noyau unique se divise (fig. 39, planche XI).

Nous n'avons pu suivre tous les stades de cette division, car ils se passent très rapidement, mais nous avons vu la plaque équatoriale où il a été impossible de compter les chromosomes. Le grain de pollen devient de plus en plus circulaire, la vacuole a disparu et le protoplasme se présente sous la forme d'un treillis à mailles assez lâches (fig. 42, planche XI). On reconnaît alors très nettement une exine épaissie et une intine mince. La cellule renferme deux noyaux : un gros occupant le centre qui est le noyau du tube, le plus petit le noyau générateur, est environ la moitié de l'autre.

C'est à ce moment que se produit la dégénérescence d'un grand nombre de grains. Les grains dégénérés ont conservé la forme à trois sillons. Leur paroi est épaisse et ils renferment à leur intérieur un amas de chromatine sans forme bien définie (fig. 40, planche XI).

Le noyau générateur commence à se diviser avant que le tube pollinique ne se forme (fig. 43, planche XI). On aperçoit alors dans le grain de pollen, au centre, le noyau du tube et tout près les deux cellules génératrices qui ont une forme de poire (fig. 44, planche XI). Paul JAEGER cite de nombreuses familles dans lesquelles le grain de pollen est trinué. Nous ajouterons à cette longue liste le genre *Viola odorata*. Cet auteur dit : « Nous voyons donc que les plantes à grains de pollen trinué se rencontrent chez les monocotylédones et les dicotylédones et chez ces dernières à la fois parmi les Apétales, dialypétales et gamopétales. SCHURHOFF dit que l'état trinué du grain de pollen représente le dernier pas de cette tendance, qui a pour but de pousser aussi loin que possible le développement de la génération haploïde sur la génération diploïde. Il faut donc s'attendre, ajoute l'auteur, à ce que cette tendance évolutive se manifeste dans

les divers rameaux du système naturel. Comme il s'agit là d'un réel progrès dans le développement, une régression du stade trinuéclé vers le stade binuéclé ne peut plus se faire. L'état trinuéclé aurait donc une haute signification en phylogénèse et systématique.

L'exine se rompt en un point et le tube pollinique se dégage. Dès le début les deux cellules génératrices et le noyau du tube y pénètrent tandis que l'intérieur du grain de pollen se creuse d'une grande vacuole. Le tube pollinique s'allonge de plus en plus et le noyau du tube et les cellules génératrices se dirigent vers l'extrémité. Celles-ci sont à la suite l'une de l'autre leurs parties renflées (fig. 46, planche XI) se faisant face puis une fois au bout du tube elles se placent côte à côte (fig. 47, planche XI).

Des préparations fixées au Regaud montrent que ces grains de pollen et ces tubes ont un stock mitochondrial important (fig. 41-48, planche XI). On y reconnaît des grains d'amidon mais en petite quantité et non très nombreux comme l'a vu GORCZYŃSKI dans les fleurs cléistogames. La longueur des différents tubes polliniques est variable, mais nulle part nous n'en avons vu franchir la paroi de l'anthère comme cela se passe dans les fleurs cléistogames. Par contre, arrivés contre cette paroi ils la longent, comme s'il leur manquait une substance leur permettant d'en digérer l'épiderme.

Miss MUDGE décrivant la germination des grains de pollen dans les fleurs cléistogames de *Viola odorata* montre que les grains de pollen qui germent sont ceux au stade à trois sillons, alors que ceux qui ont atteint la forme circulaire dégénèrent (fig. 45, planche XI) ce qui serait en faveur de la théorie de l'arrêt dans le développement défendue par GEBEL.

CONCLUSIONS

Les recherches que nous venons d'exposer nous permettent de tirer les conclusions suivantes :

A. — Dans l'ordre morphologique nous montrons :

1° Que l'ovaire des fleurs cléistogames et chasmogames n'est jamais complètement fermé. Les carpelles ne se soudent pas dans le style; l'ovaire est donc ouvert, comme cela a déjà été observé dans quelques autres groupes, en particulier chez les Juglandales (Hagerup).

Les ovules se forment sur les carpelles et non sur l'axe. Les carpelles de *Viola* seraient donc de vrais carpelles comme chez les *Cycas* et non un involucre comme dans certains groupes (Caryophyllales, selon Hagerup); ces observations justifient le maintien des Violacées au voisinage des Résédacées, comme le fait HUTCHINSON;

2° Nous attirons l'attention sur les très longs poils épidermiques qui garnissent les carpelles. Il semble que ces formations qui remplissent, comme un faux tissu lâche, tout l'espace entre les carpelles et les étamines jouent le rôle physiologique précis de faciliter le cheminement du tube pollinique entre l'anthère et le stigmate. Nous n'avons pas vu de papilles stigmatiques;

3° Nous confirmons entièrement, dans l'ordre morphologique, les résultats des observations de GEBEL, à savoir que morphologiquement les fleurs cléistogames sont des fleurs arrêtées, que les grains de pollen germent dans l'anthère des fleurs chasmogames et que l'assise mécanique existe aussi dans les fleurs cléistogames.

B. — Dans l'ordre cytologique nous montrons :

1° Que biologiquement la fleur cléistogame ne se présente pas comme une fleur arrêtée dans son développement, mais complètement « mûre » et même, quant au pollen à évolution accélérée, puisque le grain de pollen germant et fécondant l'ovule, n'est pas obligé d'arriver au terme de son évolution normale.

2° Nous montrons la dégénérescence du pollen des fleurs chasmogames, dégénérescence qui se traduit cytologiquement par une grande pauvreté en amidon et des modifications chromosomiques. Cette dégénérescence se produit à tous les stades à partir de la méiose, mais n'est perceptible qu'au moment de la formation des jeunes grains de pollen. Elle semble traduire comme chez les Dipsacacées (P. JAEGER), une tendance vers l'unisexualité et non un phénomène accidentel;

3° En ce qui concerne les chromosomes, nous avons compté dans les fleurs chasmogames $2n = 20$. Au moment de la méiose on ne trouve au stade de la diakynèse plus que 14 chromosomes de sorte que $n = 7$. En rapprochant ces faits de ceux observés par GORCZYNSKI et Miss MADGE, chez les fleurs cléistogames, nous sommes amenés à conclure que le nombre fondamental des chromosomes est 5 ($n = 5$). La réduction du nombre de 20 en celui de 14 doit avoir lieu au stade du peloton par un mécanisme encore inconnu. Le matériel à 20 chromosomes serait tétraploïde et résulterait d'une mutation. La dégénérescence du pollen des fleurs chasmogames est peut-être en rapport avec cette anomalie du stock des chromosomes.

BIBLIOGRAPHIE

- BLISS (M.). — A contribution to the life history of *Viola*. *Annals of Botany*, 26, 1912.
- BURCK. — Über Kleistogamie im weiteren Sinne und das Knight-Darwin'sche Gesetz. *Ann. du Jard. bot. de Buitenzorg*, 8, p. 122-164.
- BURCK. — Die Mutation als Ursache der Kleistogamie. *Recueil des Travaux botaniques néerlandais*, 2, 1905.
- BURCK. — Sur des plantes qui, à l'état sauvage, présentent le caractère de races intermédiaires dans le sens de la théorie de la mutation. *Archives néerlandaises des sciences exactes et naturelles*, sér. II, t. 55, 1906.
- GÖBEL (K.). — Die Kleistogamen Blüten und die Anpassungstheorien. *Biolog. Centralblatt*, 1904, 24, Hefte 12, 22, 23.
- GORCZYNSKI (T.). — Recherches histo-cytologiques sur les fleurs cléistogames : chez *Lamium amplexicaule*, *Oxalis acetosella* et *Viola odorata*. *Acta Soc. Botan. Polon.*, 6, 1929.
- GORCZYNSKI (T.). — Zbadanie nad Kleistogamją III. Dymorfizm Kwiatowy u rośliny wonnego petnokiwiatowego. (*Viola odorata* fl. pleno hort.). *Acta Soc. Botan. Polon.*, 10, 1932.
- JÉGER (P.). — Etude de la sexualité chez les Dipsacacées. *Thèses Sciences. Strasbourg*, 1937.
- LECLERC DE SABLON. — Recherches sur les fleurs cléistogames. *Revue Générale de Botanique*, 12, 1900.
- LÆW (E.). — Bemerkungen zu W. Burck's Abhandlung über die Mutation als Ursache der Kleistogamie. *Biolog. Centralblatt*, 26, 1906.
- MADGE. — Spermatogenesis and fertilization in *Viola odorata* var. *praecox*. *Annals of Botany*, t. 43, 1929.
- MOHL (H. V.). — Einige Beobachtungen über dimorphe Blüten. *Bot. Zeit.*, n° 42, 16 October 1863.
- PÉCHOUTRE (F.). — Biologie florale. *Encyclopédie Scientifique*, Doin et fils, éditeurs.
- WESTE (G.). — Cleistogamy in *Viola Riviniana* with especial reference to its cytological aspects. *Annals of Botany*, t. 44, 1931.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE X. — FIG. 1 à 12 : MITOSE SOMATIQUE

- Fig. 1. — Extrémité de sépale fixé au Helly coloré au Feulgen et montrant des noyaux en interphase.
- Fig. 2. — Noyau au repos.
- Fig. 3. — Noyau en interphase.
- Fig. 4 et 5. — Stade de la plaque équatoriale.
- Fig. 6. — Prophase. Matériel chromatique en peloton.

Fig. 7 et 8. — Anaphase et télophase.

Fig. 10 et 11. — Fin de la télophase. Le matériel chromatique passe par un stade en peloton rappelant le début de la prophase.

Fig. 12. — Les cellules filles sont constituées; les noyaux sont en interphase.

FIG. 13 à 26 : MEÏOSE

Fig. 13. — Cellule-mère des grains de pollen (Helly-Feulgen).

Fig. 14. — Cellule-mère des grains de pollen, plusieurs corps nucléolaires (Bataillon fuschine add.).

Fig. 15 et 16. — Début de la prophase (Helly-Feulgen).

Fig. 17, 18, 19. — Cellules avec corps nucléolaires accolés (Bataillon hematoxyline).

Fig. 20. — Nœud synézétique (Bataillon hematoxyline).

Fig. 21, 22. — Le nœud synézétique se développe. Les chromosomes sont répandus dans la cellule (Helly-Feulgen).

Fig. 23. — Plaque équatoriale. (Bataillon fuschine acide).

Fig. 24, 25, 26. — Plaque aquatoriale — division des chromosomes — Deux chromosomes aberrants (Helly-Feulgen).

PLANCHE XI. — FIG. 27, 36 : MEÏOSE

Fig. 27. — Anaphase (Bataillon fuschine acide).

Fig. 28, 29. — Fuseau bipolaire.

Fig. 30. — Début de la division homéotypique.

Fig. 31, 32, 33. — Fin de la division homéotypique. Fuseau multipolaire.

Fig. 34. — Apparition de la membrane des jeunes grains de pollen.

Fig. 35, 36. — Séparation des jeunes grains de pollen. La membrane de la cellule-mère existe toujours.

FIG. 37, 48 : GRAINS DE POLLEN, GERMINATION

Fig. 37. — Jeune grain de pollen de sa libération.

Fig. 38. — Grain de pollen au repos. Grande vacuole.

Fig. 39. — Début de la division du noyau du grain de pollen.

Fig. 40. — Grain de pollen dégénéré.

Fig. 41. — Grain de pollen fixé au Regaud (fleur chasmogame).

Fig. 42. — Grain de pollen avec les deux cellules.

Fig. 43. — Division de la cellule génératrice.

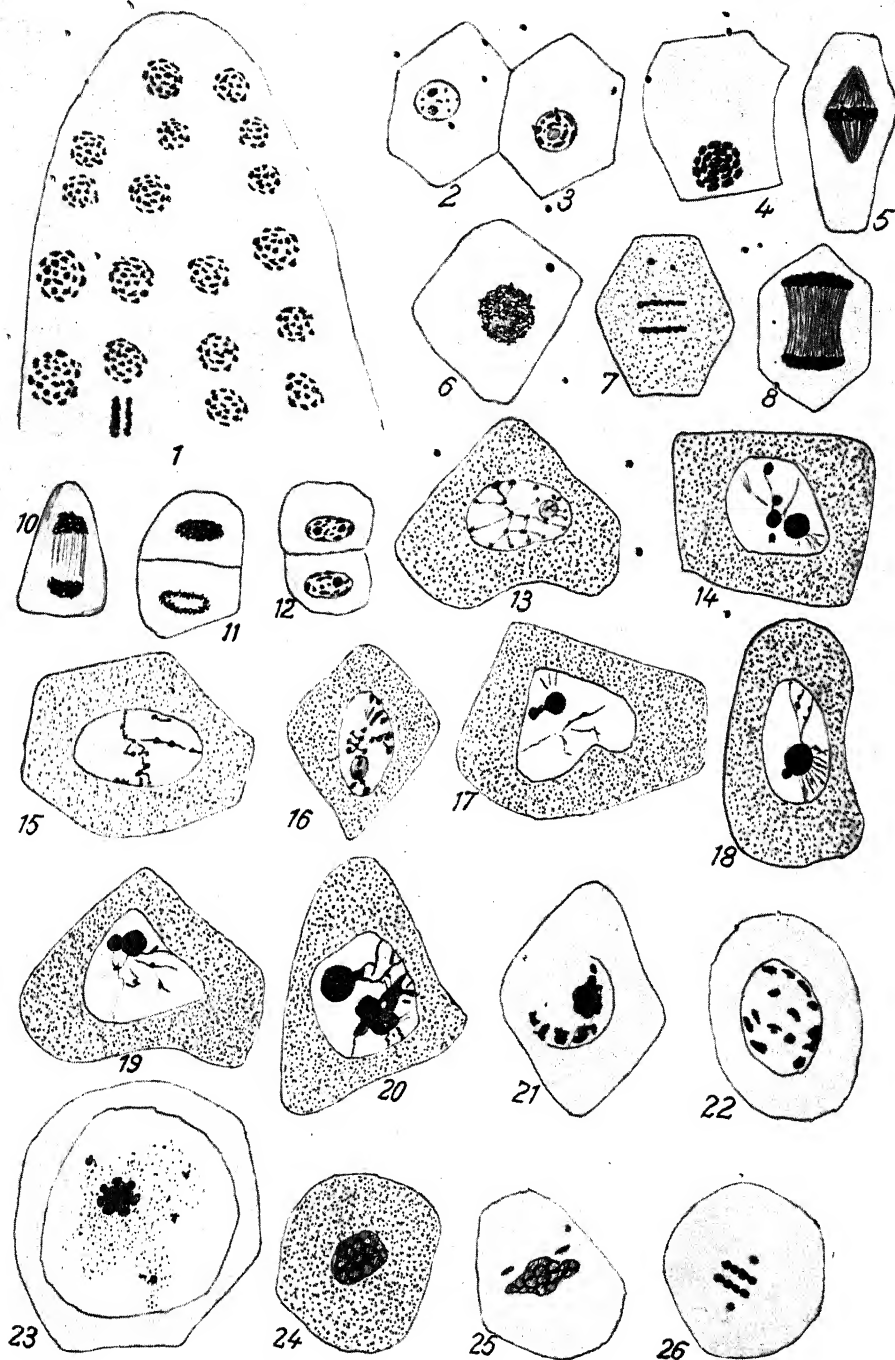
Fig. 44. — Grain de pollen trinuécléé.

Fig. 45. — Grain de pollen fixé au Regaud (fleur cléistogame).

Fig. 46. — Portion du tube pollinique.

Fig. 47. — Stade ultérieur; extrémité du tube pollinique.

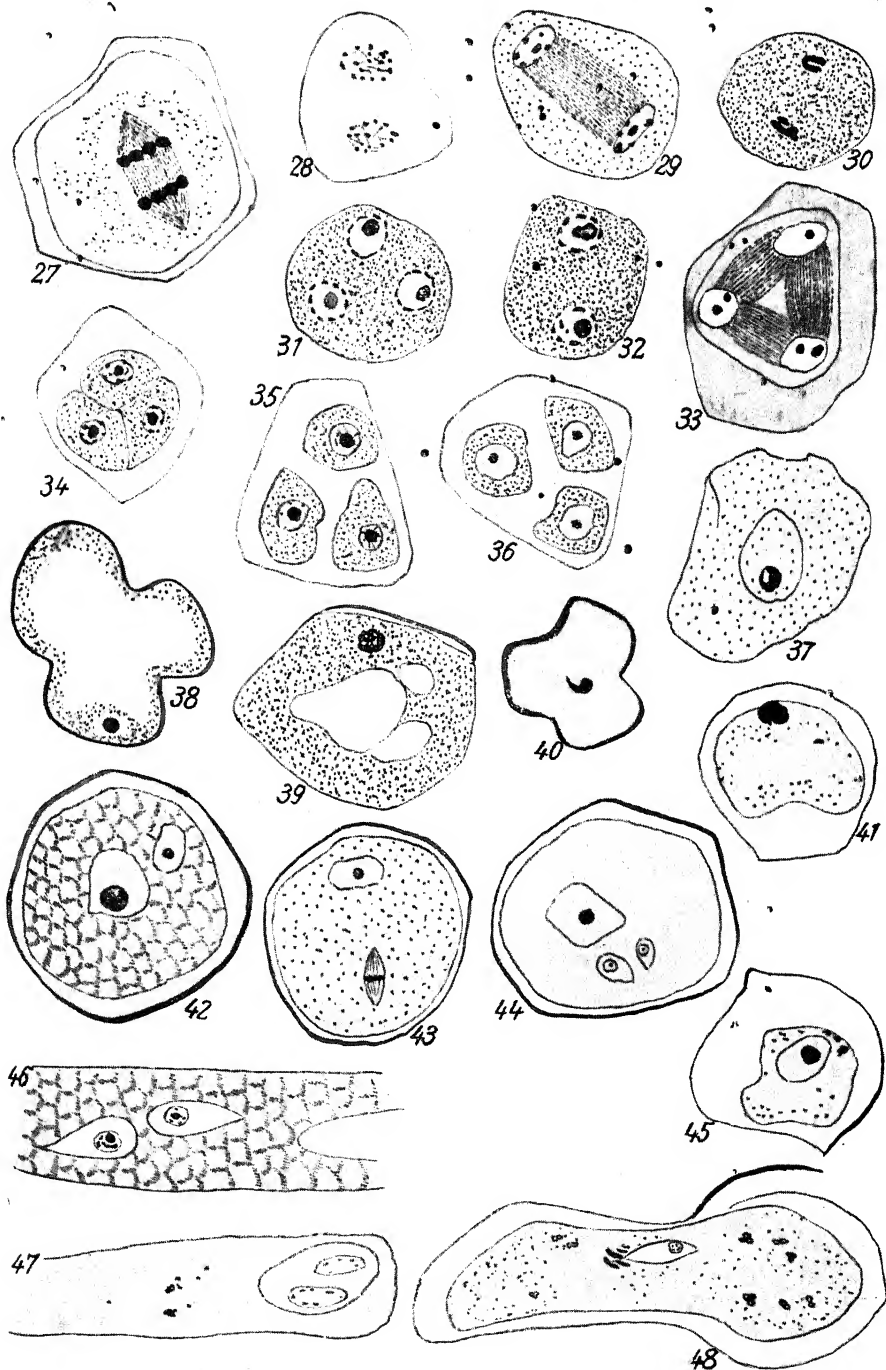
Fig. 48. — Germination du grain de pollen. La fixation au Regaud permet de voir des grains d'amidon.



Mitose somatique chez *Viola odorata*.

MASSON et C^{ie}, éditeurs.

A. THÉRON, del.



Méiose chez *Viola odorata*.

A. THÉRON, del.

Victor GRÉGOIRE

(1870-1938).

Le chanoine Victor GRÉGOIRE, directeur de « *La Cellule* », professeur de Cytologie et de Botanique et directeur de l'Institut Carnoy à l'Université catholique de Louvain, est mort en cette ville, le 12 décembre 1938, à l'âge de 68 ans. La Belgique perd en lui un Maître illustre, et la Cytologie un de ceux qui ont le plus efficacement contribué à ses progrès depuis une quarantaine d'années.

V. Grégoire était né à Anderlues (Mainaut belge). Après ses humanités, il avait fait sept années d'études philosophiques et théologiques à l'Université grégorienne de Rome, puis cinq années d'études de sciences naturelles à Louvain, dans le laboratoire et sous la direction de J.-B. Carnoy. On sait que Carnoy avait été, en cytologie, un précurseur : il avait fondé à Louvain un cours et un laboratoire de cytologie dès 1876 (!) et son « *Manuel de Microscopie* » de 1879-80 insistait avec force sur l'importance fondamentale de cette science; en 1884, il publiait le premier fascicule de son traité de *Biologie cellulaire* (malheureusement inachevé) et un an après, sans appuis, sans argent, sans autres collaborateurs que ses élèves, il créait la revue *La Cellule*. Grégoire devait trouver en lui un initiateur de premier ordre et lui succéder après sa mort, en 1899.

A partir de cette époque, le laboratoire du Professeur Grégoire — dans ce qui devint l'*Institut Carnoy* — fut l'un des centres de recherches cytologiques les plus actifs et les plus importants du monde entier.

Dans la production scientifique *personnelle*, il faut distinguer trois « secteurs » principaux : *cytologie*, *biologie générale*, *embryologie végétale*. Il convient, dans cette revue, de rappeler surtout l'œuvre cytologique. Elle porte presque entièrement sur les deux gros problèmes de la cytologie nucléaire : étude de la mitose et des chromosomes *somatiques*, étude des mitoses *réductionnelles*.

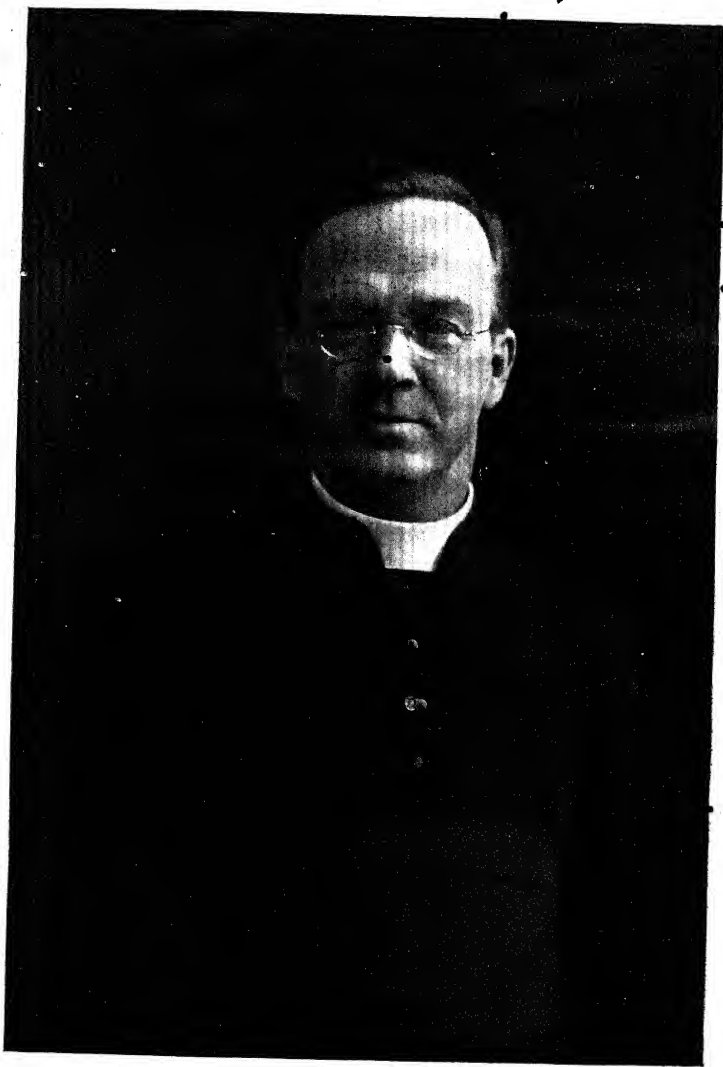
A la mitose somatique, Grégoire a consacré trois mémoires importants (1903, 1906, 1912) et diverses notes (1907-1931). Si certaines de leurs conclusions ont été ultérieurement dépassées ou restent discutées, d'autres sont toujours classiques : stade initial et final des « bandes » prophasiques et télophasiques dans les noyaux riches en chromatine, discontinuité du spirème, transformation des bandes prophasiques en un long filament mince, détails du début de la dissociation dicentrique en anaphase, notion de « tassement polaire », notion d'« euchromo-

centres » et évolution particulière des noyaux qui en sont pourvus, etc., D'autre part, ces travaux ont grandement contribué à affermir la doctrine générale de l'autonomie des chromosomes.

Sur les divisions réductionnelles, l'œuvre capitale de Grégoire est son mémoire monumental sur « *Les cinèses de maturation dans les deux règnes* » (1905-1910). Elle comporte un relevé complet de la littérature, une discussion serrée de tous les documents recueillis jusqu'alors, une judicieuse interprétation des résultats discordants, et l'auteur parvenait à établir, en conclusion, « l'unité essentielle du processus méiotique ». Ce travail d'interprétation critique fut accueilli avec une extrême faveur et avec une sorte de gratitude par tous les cytologistes de l'époque. On a souvent écrit qu'il avait mis ordre et lumière dans un domaine où il était urgent qu'on en mette. De fait, ce fut le guide précieux et indispensable de tous les chercheurs qui entreprirent ensuite l'étude de la méiose. Les leçons de cytologie que le regretté A. Prenant consacrait à ce problème à l'École de Médecine de Paris, il y a une quinzaine d'années, par exemple, en étaient étroitement tributaires et le professeur ne s'en cachait pas.

Outre ses travaux de synthèse et de critique, Grégoire a publié sur le même problème, entre 1899 et 1909, six mémoires originaux, dont bien des données sont également restées classiques. C'est lui qui, avec son élève Berghs (1904), établit et vérifia pour la première fois, chez les Végétaux, la conjugaison latérale des chromosomes au stade synaptique (conjugaison « parasyndétique » ou « zygoténique »). Tous ces travaux unissent, d'une façon remarquable, les vues synthétiques à la plus stricte objectivité, une grande clarté d'exposition à une méthode critique rigoureuse, la précision et l'abondance des observations à celles de l'illustration.

À côté de ses mémoires cytologiques personnels, il faut signaler toute son œuvre de « direction ». Car Grégoire a été un admirable chef d'école et ses anciens élèves se sont plu maintes fois à proclamer la haute valeur de la formation qu'ils en avaient reçue et la part prépondérante et décisive qui lui revenait dans l'élaboration et la rédaction de leurs mémoires et de leurs thèses. La plupart de ces travaux ont paru dans *La Cellule* — qui est toujours resté l'organe de l'Institut Carnoy et de l'école de Louvain — et dont ils rempliraient, à eux seuls, une dizaine de tomes. La plupart portent sur des questions — d'ailleurs très diverses — de cytologie *nucléaire*, mais les autres éléments cellulaires n'ont pas été négligés (protoplasme, mitochondries, système de Golgi, membrane cellulaire végétale, etc.). Beaucoup d'entre eux ont apporté à la cytologie des résultats nouveaux et importants ; il n'est pas question de les énumérer ici et le signataire de ces lignes ne peut parler, au surplus, qu'avec discrétion de l'ensemble de cette œuvre d'école, à laquelle il s'honore d'avoir participé. Peut-être lui sera-t-il permis toutefois de témoigner de l'extrême souci d'objectivité, du soin minutieux et prolongé



VICTOR GRÉGOIRE

(1870-1938).

dans l'observation, de la rigoureuse fidélité dans les dessins documentaires que Grégoire a toujours exigés de chacun de ses élèves. Rien ne dépassait sa sévérité sur ce plan de la « conscience professionnelle », sans laquelle les plus belles qualités d'un chercheur risquent de travailler à vide.

La grande réputation de Grégoire lui attira très tôt de nombreux élèves étrangers. Parmi ceux qui sont restés biologistes et ont occupé ou occupent une chaire universitaire ou un centre de recherches, citons : de Litardière, de Sinéty, Kowalski, en France, — Sharp, Randolph, Lutz, Weier, Michels, en Amérique, — Kagawa, Matsuda, Morinaga, Inouye, au Japon, — Muckermann, Bleier, en Allemagne, — de Baehr, Szakien, en Pologne, — Valcanover en Italie, Vuckovic en Yougoslavie, de Zeeuw en Hollande, Bordàs en Espagne, etc. En Belgique même, le nombre des botanistes et biologistes formés par lui est très élevé.

Nous n'ajouterons que quelques mots à propos de son œuvre non cytologique.

Dans le domaine de la biologie générale, V. Grégoire a publié entre autres plusieurs études critiques, pénétrantes et fort originales, sur le problème de l'évolution (1921) et sur l'hérédité (1907, 1910, 1925, 1927).

L'œuvre embryologique est plus ample, mais reste — hélas! — inachevée. Elle a complètement renouvelé le problème de la morphogénèse et de l'histogénèse de la tige feuillée et des primordiums foliaires et gemmaires (1935) et surtout des organes floraux (1931-1938). « *La Cellule* » vient de publier un énorme mémoire posthume sur « *Le Carpelle* », dont les conclusions sont très importantes.

Il faut signaler enfin quelques travaux d'anatomie végétale, des articles ou conférences sur l'enseignement et l'histoire de la biologie et ses « *Eléments de Botanique* » (3^e édition : 1936) qui sont un modèle d'exposition et renferment maintes idées originales. Le professeur, du reste, était à la hauteur du savant.

Victor Grégoire était membre de l'Académie Royale de Belgique, de l'Institut de France, de l'Académie Pontificale de Rome, de la « Royal Irish Academy », docteur *honoris causa* des Universités de Nancy et de Dublin, membre d'honneur de nombreuses sociétés savantes anglaises, hollandaises, suisses, américaines. Lors de son jubilé professoral en 1925, un magnifique « Volume jubilaire » lui avait été offert, réunissant aux travaux de ses élèves ceux des plus illustres cytologistes d'Europe et des Etats-Unis.

La personnalité du chanoine V. Grégoire était extrêmement riche, nuancée et sympathique. Peu d'hommes étaient aussi « complets », avaient une culture générale aussi étendue. Peu d'hommes aussi, pensons-nous, ont eu une âme aussi généreuse et aussi avide de faire le bien, un dévouement aussi total et aussi désintéressé à leur enseignement, à leurs élèves et à leurs amis.

Pierre MARTENS.

IMPRIMERIES OBERTHUR, RENNES-PARIS
(2912-39).

REVUE DE CYTOLOGIE ET DE CYTOPHYSIOLOGIE VÉGÉTALES

Recherches sur les plasmodes de deux Myxomycètes

par M^{lle} Geneviève DALBÈUX
(Mémoire reçu le 23 août 1939).

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	124
HISTORIQUE	124
CULTURE DES PLASMODES	124
COLORATION VITALE DES PLASMODES	127
TRAVAUX CYTOLOGIQUES	129
MATÉRIEL ET TECHNIQUE	131
MATÉRIEL	131
TECHNIQUE	132
Technique des cultures	132
Culture de <i>Physarum polycephalum</i>	132
Culture de <i>Fuligo septica</i>	136
Technique des cultures additionnées de colorants vitaux	137
Colorants employés	137
Marche des expériences	138
Technique d'observation	138
Étude vitale et post-vitale	139
Réactions microchimiques	139
Fixation et coloration	140
Étude du noyau	140
Recherche du chondriome	141
CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES	141
Formes	141
Courants cytoplasmiques	147
Croissance et dimensions	149
Couleur	150
CARACTÈRES CYTOLOGIQUES	151
NOYAU	151
CHONDRIOME	155
GRANULATIONS CALCAIRES ET PIGMENTAIRES	157
GLYCOGÈNE	158
MÉTACHROMATINE	159
TOXICITÉ DE QUELQUES COLORANTS VITAUX	159
LES VACUOLES	167
CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES	171

INTRODUCTION

MANGENOT a publié, en 1932, un Mémoire sur la culture des plasmodes d'une variété de *Fuligo septica*, et son comportement vis-à-vis des colorants. Nous nous sommes proposé de reprendre cette étude, afin de la compléter sur certains points; d'autre part, et surtout, nous avons eu pour but de comparer à ces plasmodes de *Fuligo*, du point de vue des méthodes de culture, de la réaction des colorants vitaux, des caractères cytologiques, les plasmodes d'une espèce de Calcarées bien différente : *Physarum polycephalum*. Avec PINOY (1907), nous pensons que « les Myxomycètes constituent un matériel de choix pour le biologiste qui veut étudier la Chimie et la Physiologie cellulaires »; il nous a donc semblé utile de tenter un essai en vue de rendre moins incertaine leur culture au laboratoire et plus claire leur structure protoplasmique.

Nous exprimons ici toute notre gratitude à M. le Professeur GUILLIERMOND, membre de l'Institut, qui a bien voulu s'intéresser à nos recherches et accueillir notre Mémoire dans la *Revue de Cytologie*, à M. MANGENOT, dans le service de qui nous avons travaillé, à M. CRÉPIN, à M^{lle} M. Th. GERTRUDE, à M. R. J. GAUTHERET, à M. R. REILHES, qui nous ont aidée et encouragée; et nous remercions cordialement tous nos camarades de laboratoire.

HISTORIQUE

L'aperçu historique concernera d'abord les travaux sur la culture des plasmodes, puis sur leur coloration vitale et enfin les études cytologiques sur ces organismes.

CULTURE DES PLASMODES

Le premier procédé de culture d'un Myxomycète au laboratoire a été introduit par Arthur LISTER après sa remarque faite, en 1877, sur les plasmodes de *Badhamia utricularis* qui sont capables, dans la nature, de consommer un Champignon : le *Corticium puteanum*. Ce savant essaya ensuite de cultiver expérimentalement le plasmode en le nourrissant des carpophores de plusieurs espèces de Basidiomycètes. Depuis lors, de nombreuses méthodes de culture des Myxomycètes ont été proposées : nous allons les énumérer très brièvement sans suivre

l'ordre chronologique, qui ne nous paraît pas satisfaisant, puisque chaque auteur cherche plutôt à innover qu'à perfectionner les méthodes antérieures. Nous préférons, au contraire, grouper les procédés de culture en différentes catégories, avec l'espoir que ces classements ne nuiront pas à l'exactitude des faits et que l'exposé sera grandement facilité.

• Nous distinguons d'abord les habitats naturels et les milieux de culture.

Habitats naturels.

Il s'agit simplement des substrats sur lesquels on rencontre les Myxomycètes dans la nature et qui sont conservés tels quels au laboratoire avec les plasmodes qu'ils abritaient.

Nous pouvons citer, dans cet ordre d'idées, le bois pourri employé par MANGENOT pour la culture de *Fuligo septica* et par SKUPIENSKI pour celle de *Dilysium nigripes*, l'écorce de Chêne mouillée dont parlait BARANETZKI. A cette catégorie appartiennent les carpophores de Champignons proposés par A. LISTER. Plusieurs auteurs ont tenté avec succès, depuis les travaux de LISTER, de cultiver certains Myxomycètes sur des carpophores de divers Champignons et des études systématiques, pour rechercher les espèces mycophages, ont été poursuivies en particulier par HOWARD et CURRIE.

Ces auteurs ont montré qu'un grand nombre d'espèces (dont *Physarum polycephalum* et *Fuligo septica*), parmi les Myxomycètes auxquels ils s'étaient adressés, sont capables d'utiliser soit les carpophores, soit le mycélium vivant de beaucoup d'Hyménomycètes et ils qualifient ce phénomène de « parasitisme ». Il y a, nous semble-t-il, une évidente confusion de termes, souvent répétée dans les travaux de ces auteurs et aussi dans le livre de MACBRIDE et MARTIN qui relate leurs recherches : comme l'ont souligné HOWARD et CURRIE, le Myxomycète détruit son prétendu « hôte », brutalement et radicalement, sans lui imprimer aucune de ces modifications physiologiques ou morphologiques durables qui caractérisent les actions parasitaires.

Après cette remarque, nous ajouterons que les données de HOWARD et CURRIE apportent de nouvelles possibilités pour la culture des Myxomycètes, soit qu'on utilise directement les Champignons comme substrats naturels, soit qu'on les emploie dans les conditions que nous allons étudier dans les paragraphes suivants.

En général, les habitats naturels sont extrêmement putrescibles et défavorables à l'étude des plasmodes qu'ils abritent, ainsi que l'a remarqué MANGENOT au sujet du bois pourri « substratum irrégulier, morcelé, dans lequel l'organisme peut se dissimuler (et qui) convient mal à l'observation ». De plus, la grande majorité des Champignons frais ne se rencontrent que pendant quelques mois de l'année.

On a donc fait appel à des milieux uniformes, de composition plus constanté, permettant l'enfretien régulier des espèces en vue de leur étude et de l'expérimentation.

Milieux artificiels.

Nous proposons de les diviser en deux groupes : les substrats nutritifs et les substrats inattaquables.

Les méthodes de culture en milieux nutritifs s'inspirent beaucoup de celles en usage pour les Champignons. Les milieux liquides ont été peu utilisés et sont, en effet, trop différents des milieux naturels. MILLER (1898) a cependant préconisé, pour quelques espèces, l'infusion de foin.

Les milieux solides constitués par des tranches d'organes ne paraissent pas avoir rencontré de succès : seul, à ma connaissance, SKUPIENSKI (1920) utilisa des tranches de carotte pour la culture de *Didymium nigripes* et *Dictyostelium mucoroides*. Par contre, les gelées tiennent la première place parmi les milieux solides. La substance solidifiante est le plus souvent la gélose (la gélatine ayant été reconnue beaucoup moins favorable, par JAHN, en 1932). On incorpore habituellement à la gélose des solutions nutritives : tels les extraits de graines d'Orge, de Maïs, de Malt, de champignons secs, les pois cassés préconisés par JAHN pour diverses espèces de *Didymium* et *Badhamia utricularis*, l'infusion de foin, le moût de bière, le bouillon de carotte et de pomme de terre employés par SKUPIENSKI pour plusieurs *Didymium*, la décoction d'Avoine qui, d'après HOWARD, conviendrait à la culture des Myxomycètes en général.

Dans quelques rares cas, on a essayé d'utiliser la gélose sans liquide nutritif en lui ajoutant une solution purement minérale (liquide de Knop d'après Miss CAYLEY, 1929, pour *Didymium*) ou simplement de l'eau du robinet ou distillée (SKUPIENSKI 1933, pour *Didymium nigripes*). Dans ces conditions, les plasmodes se nourriraient de gélose et de Bactéries.

Les méthodes de culture des Myxomycètes sur milieux inattaquables sont aussi nombreuses que les précédentes. L'aliment, ne pouvant être puisé dans le substrat, doit être fourni régulièrement au plasmode sous forme de petits fragments d'un matériel approprié. Ainsi, le substrat ne s'infecte pas de manière massive alors que les milieux de gélose additionnée de solutions nutritives sont rapidement contaminés.

Ces méthodes ont été appliquées par MANGENOT, dès 1932, qui a cultivé les plasmodes de *Fuligo septica* sur disques de bois de Hêtre en les alimentant soit avec des carpophores d'Hyménomycètes dégradés par la décomposition ou par la cuisson (les fragments crus n'étant pas

attaqués) soit avec la levure de boulangerie. En 1935, JAHN emploie le papier filtre pour la culture de *Badhamia utricularis* qu'il alimente à l'aide de morceaux de carpophores bœuillis d'Hyméromycètes. Pour l'entretien de *Physarum polycephalum* au laboratoire, CAMP a préconisé, en 1934, le papier filtre ou la gaze avec alimentation à l'Avoine roulée pulvérisée.

* Une place spéciale doit être faite aux méthodes introduites par PINOY. D'après ce savant, les Myxomycètes ne peuvent se développer sans le concours d'une Bactérie; aussi a-t-il réalisé des cultures mixtes qui associent une espèce de Myxomycète à une espèce bien déterminée de Bactérie à l'exclusion de tout autre être vivant. Mais cette nécessité des Bactéries dans la vie des Myxomycètes a été contestée plusieurs fois, en particulier par SKUPIENSKI (1).

COLORATION VITALE DES PLASMODES

La coloration vitale des Myxomycètes a été très peu étudiée. Les savants qui ont cherché la toxicité des colorants vitaux pour ces organismes sont, chronologiquement, SKUPIENSKI, MANGENOT, JAHN.

SKUPIENSKI (1929-1931) a publié quelques données sur l'influence du rouge neutre sur *Didymium nigripes* et diverses Acrasiées : ce colorant, à la dose de 1/5.000 ne serait pas toxique s'il est ajouté à la gelée nutritive après sa stérilisation. Au contraire, le rouge neutre stérilisé serait très toxique, même à la faible dose de 1/15.000, mais les cultures seraient capables de s'adapter à la présence de ce colorant stérilisé. *Didymium nigripes* supporterait très bien le bleu de méthylène et le vert Janus à 1/5.000.

MANGENOT (1932 à 1934) a étudié systématiquement l'action d'un certain nombre de colorants vitaux sur le plasmode de *Fuligo* α , en utilisant deux méthodes : soit pénétration par la surface externe du plasmode, c'est-à-dire lavages quotidiens du substrat par une solution de concentration connue du colorant étudié, ou pénétration par les surfaces internes, c'est-à-dire incorporation, à l'aliment habituel du plasmode, d'une solution colorée dosée.

Voici les résultats de cette étude : à l'encontre de ce que pensait SKUPIENSKI, la stérilisation ne modifie pas la toxicité du rouge neutre et les plasmodes ne manifestent pas d'accoutumance vis-à-vis de ce colorant; les doses toxiques sont plus fortes si le colorant pénètre par voie interne que s'il entre par voie externe, et, dans les deux cas, plus

(1) Nous discuterons plus loin ce problème de la culture pure (bactériologiquement) des plasmodes.

élevées que celles utilisées par SKUPIENSKI. Enfin, au point de vue de leur toxicité pour *Fuligo* α , les colorants vitaux peuvent se grouper en deux séries :

La première, comprenant les bleus de crésyle, de toluidine et de méthylène, le rouge Congo, assez peu toxiques.

La seconde, avec le rouge neutre, les sulfate et chlorhydrate de bleu de Nil, beaucoup plus toxiques.

Les doses employées sont, en ce qui concerne le rouge neutre et le bleu de crésyle, de l'ordre de 0,05 % pour la pénétration par voie externe et 0,1 % à 0,15 % pour la pénétration par voie interne.

JAHN (1935) fournit de brèves données sur la toxicité du rouge neutre : la stérilisation le détruit en grande partie et le rend inoffensif.

La question des vacuoles est inséparable de la coloration vitale, aussi les premières études faites sur les vacuoles avant l'usage des colorants vitaux sont-elles peu documentaires : CIENKOWSKI et DE BARY (1863 et 1864) signalent, dans les plasmodes de Myxomycètes, deux sortes de vacuoles : les unes pulsatiles, d'autres paraissant comparables aux vacuoles digestives des Infusoires.

En 1891, PFEFFER a provoqué expérimentalement l'apparition de vacuoles dans les plasmodes de Myxomycètes et en a étudié le mécanisme. D'après lui, dans tous les cas, la vacuole se forme exclusivement par suite de la solubilisation d'un corps ingéré et aucune vacuole préexistante, petite ou grande, ne contribue nécessairement à ce phénomène.

Ces expériences intéressantes tiennent une place importante dans l'interprétation générale des vacuoles mais ne renseignent pas beaucoup sur celles des Myxomycètes.

SKUPIENSKI, en 1929, a distingué sur *Didymium nigripes* trois sortes de vacuoles : les unes « élémentaires » comparables à celles des Végétaux supérieurs et des Champignons, d'autres pulsatiles et, enfin, des vacuoles digestives. Il y ajoute même des corpuscules de « différentes dimensions », prenant fortement le rouge neutre.

Les travaux de MANGENOT (1934) constituent la première étude complète des vacuoles de *Fuligo septica*. Après une description des vacuoles de plasmodes cultivés sur colorants vitaux, l'auteur recherche comment varient leurs aspects : d'une part, quand change le colorant, l'aliment restant le même; d'autre part, quand change l'aliment consommé.

Par des observations minutieuses, l'auteur a identifié les inclusions qui fixent les colorants vitaux : boules de gélose, fragments de carpophores de Champignons, vestiges de basides, spores incluses ou non dans un tissu fongique plus ou moins dégradé, Bactéries, kystes

nécrosés, boules cimentaires du sclérote. Ces particules alimentaires plus ou moins remaniées sont directement noyées dans le cytoplasme (s'il s'agit de corps attaqués si lentement que les produits de leur décomposition ne s'accumulent jamais autour d'eux) ou, le plus souvent, entourées d'une auréole vacuolaire qui peut être solide ou semi-fluide (quand la substance est surtout imbibable par l'eau) ou bien très fluide (quand le phénomène de dissolution prédomine). Dans aucun cas, MANGENOT n'a pu trouver de vacuoles non digestives, ni de vacuoles pulsatiles et il a montré qu'il existe tous les intermédiaires entre les vacuoles à précipités, parfois rencontrées dans les plasmodes et les vacuoles digestives les plus typiques.

Cette étude, jointe à d'autres observations sur des espèces de Myxomycètes très différentes de *Fuligo septica*, a permis à l'auteur une interprétation d'ensemble des vacuoles en général. En voici l'essentiel : les vacuoles ne sont pas des organes digestifs ; elles ne possèdent ni continuité, ni individualité propre et ne sont pas caractérisées chimiquement, comme l'admettaient les théories de DE VRIES ou de P. A. DANGEARD, mais ce sont des inclusions hydrophiles, de simples gouttes de substances dissoutes ou imbibées par l'eau, impliquées dans le fonctionnement de la matière vivante sans en être une partie essentielle. Elles naissent généralement de la fragmentation de vacuoles préexistantes mais peuvent se former *de novo*, comme c'est le cas, parfois dans les plantes cellulaires, et toujours dans les plasmodes de Myxomycètes. « Rien ne permet d'établir une différence de nature entre elles (les vacuoles digestives des Myxomycètes) et les vacuoles des êtres se nourrissant par diffusion : les unes et les autres contiennent des aliments dissous — seul varie le mécanisme par lequel ils ont été introduits — et sont, au protoplasme, ce qu'est le contenu digestif à l'organisme d'un Animal supérieur. » La distinction importante à faire est de considérer d'une part le cytoplasme, les chondriosomes et le noyau qui constituent la matière vivante, et d'autre part, les vacuoles, les inclusions éleiques, et « d'autres corps plus ou moins insolubles, d'affinités encore mal définies et dont certains (telles les concrétions pigmentaires des Myxomycètes) pourraient être rapprochés des vacuoles », dont l'ensemble forme le paraplasma des physiologistes.

TRAVAUX CYTOLOGIQUES

On a décrit chez les Myxomycètes les noyaux, les chondriosomes, les vacuoles, les grains de pigment et de calcaire, le glycogène et d'autres constituants sur lesquels notre étude ne porte pas et dont nous avons négligé l'historique. Enfin, au sujet de la métachromatine, personne, à notre connaissance, n'a publié de travaux.

Les noyaux.

LISTER démontré que le mode de division nucléaire dans *Badhamia utricularis* est la mitose. Mais les nombreux échecs auxquels aboutirent, depuis, les recherches sur la mitose des Myxomycètes avaient fait croire à l'existence de divisions directes du noyau. Récemment, SCHÜNEMANN, et HOWARD (1932) montrèrent que la mitose est rapide (20 à 30 minutes) et à peu près simultanée dans tout le plasmode : d'où la difficulté de la saisir.

La mitose intervenant au moment de la sporulation a été étudiée dans diverses espèces de Myxomycètes par DE BARY, MILLER, JAHN, LISTER. Pour *Physarum polycephalum*, F.-L. HOWARD en a donné une courte relation en 1931 sans l'illustrer par des figures. D'après lui, la mitose s'effectue en présence de centrosomes, la membrane nucléaire subsiste à la métaphase, et rien ne permet d'affirmer qu'il s'agit d'une méiose.

Les chondriosomes.

Les chondriosomes des Myxomycètes ont été étudiés par trois auteurs.

COWDRY (1918), à propos de la cytologie des Myxomycètes insiste sur les mitochondries, organites sphériques de 0,25 à 0,5 μ de diamètre, tout à fait homogènes, ressemblant à celles des Animaux inférieurs, généralement isolées, mais souvent disposées en « rows » ou en « clumps », se groupant au moment de la formation des spores.

VONWILLER, à la même époque, décrit dans les plasmodes de *Fuligo septica* des « sphéroplastés » qui existent surtout dans les couches profondes du protoplasme, parfois rencontrés à la surface du plasmode et qui se transformeraient probablement, quoique les intermédiaires n'aient pu être observés, en grains calcaires jaunes — opinion d'ailleurs infirmée par MANGENOT (1934).

LEWITSKI, en 1924, a rencontré chez les Myxomycètes des chondriosomes en forme de grains, de courts bâtonnets ou parfois d'haltères, de taille variant entre 1 μ et 0,2 μ , de nature lipoprotéique et présentant vis-à-vis des fixateurs non mitochondriaux une résistance exceptionnelle.

Le glycogène.

ERRERA a signalé, dans le plasmode et les kystes de *Fuligo septica*, la présence de glycogène. Cette substance n'occuperait pas de région distincte et circonscrite mais imbiberait plutôt le protoplasme.

ENTCH, en 1899, sur l'invitation d'ERRERA a étudié la répartition du glycogène chez les Myxomycètes : il trouva les mêmes résultats que ce dernier quant au plasmode et au kyste de *Fuligo septica* et observa son absence dans les spores.

CLAUTRIAU, la même année, rencontra le glycogène dans le plasmode de la même espèce, soit imprégnant le cytoplasme, soit, très rarement, en granules amorphes; il constata aussi son absence dans les spores.

Le pigment et le calcaire.

On trouve, dans les travaux de DE BARY (1864-1884), l'indication que les plasmodes colorés des Physaracées contiennent leur pigment associé au calcaire. A partir de 1932, MANGENOT publia diverses notes sur les corpuscules pigmentaires des plasmodes. Ces travaux établissent que dans la variété de *Fuligo septica* nommée *Fuligo* α , les grains de pigment et les grains de calcaire sont morphologiquement indépendants : les premiers sont sphériques ou ovoïdes, simples ou composés, présentant constamment un hile; leur structure est sphérocrystalline et leur constitution chimique probablement à base d'un ou plusieurs composés polyphénoliques; MANGENOT a, de plus, constaté leur origine *de novo* et suivi leur involution au cours de la dépigmentation des plasmodes en culture; les grains calcaires sont des globules réfringents, amorphes, toujours incolores, expulsés par les plasmodes en mouvement et exclus des kystes. Chez une autre variété de *Fuligo septica* (*Fuligo* β), le pigment et le calcaire sont, au contraire, associés; MANGENOT décrit, en outre, les corpuscules pigmentaires de diverses autres espèces et insiste sur leur diversité et l'intérêt que leur étude pourrait présenter pour les systématiciens.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

MATÉRIEL

Notre travail a porté sur deux Myxomycètes appartenant à la famille des Physaracées, dans l'ordre des Physariales, de la sous-classe des Myxogastres.

La première espèce est désignée couramment sous le nom de *Fuligo septica* Gmel; mais il convient de donner quelques détails à son sujet puisque MANGENOT a précisé le polymorphisme de cette espèce et attribué provisoirement le nom de *Fuligo* β à l'organisme dont le pigment et le calcaire sont associés sous forme de granules jaunes amorphes, et celui de *Fuligo* α au Champignon caractérisé

par des grains de pigment sphérocristallins distincts des globules calcaires amorphes. Notre étude a porté sur cette dernière espèce dont les souches nous ont été procurées par le professeur MANGENOT, qui recueillit des kystes en forêt d'Argonne, en octobre 1937, et a maintenu les plasmodes en culture depuis cette époque.

La deuxième espèce que nous avons étudiée est le *Physarum polycephalum* Schw., répandu surtout en Amérique et dont les échantillons nous ont été remis par le docteur COMANDON, de l'Institut Pasteur, qui les tenait du Professeur SEIFRIZ.

TECHNIQUES

Après les méthodes de culture, et la technique des expériences sur la toxicité des colorants vitaux, nous décrirons les techniques d'observation.

Technique des cultures.

Les deux espèces de Myxomycètes que nous avons étudiées n'ont pas été cultivées de la même manière. Elles peuvent vivre sur des milieux identiques, mais les conditions optima de culture paraissent plus facilement réalisées sur des substrats différents pour les deux organismes.

Aussi envisagerons-nous successivement les milieux de culture de *Physarum polycephalum* et ceux de *Fuligo septica*.

D'une manière générale, les cultures ont été maintenues à l'obscurité et à la température de 18° environ. Pourtant, certaines d'entre elles, gardées à la lumière pendant quelque temps, nous porteraient à croire, bien que nous n'ayons fait aucune étude spéciale sur ce sujet, que le comportement du plasmode de *Fuligo septica* est conforme aux conclusions de MANGENOT qui a reconnu un phototactisme négatif très marqué, et d'autre part que la lumière solaire diffuse ne tue pas les plasmodes de *Physarum polycephalum* mais en accélère la sporulation, ainsi que GRAY l'a observé.

Culture de *Physarum polycephalum*. — Nous avons d'abord utilisé le procédé que HOWARD recommande pour la culture des Myxomycètes, en général, puis nous avons cherché des procédés nouveaux ou appliqué à *Physarum polycephalum* des méthodes déjà éprouvées sur d'autres Myxomycètes.

ESSAI DE LA MÉTHODE DE HOWARD. — Avant ensemencement sur le milieu nutritif, il faut, de toute nécessité, purifier le plasmode. Nous nous sommes inspirée des brèves données fournies par HOWARD

pour la purification des plasmodes pris dans la nature : il préconise « plusieurs transferts fréquents et successifs sur gélose non nutritive » ; alors le plasmode sera « raisonnablement libre des organismes qui le contaminent ». Nous avons donc opéré de la façon suivante :

Avec un instrument flambé, on prélève un fragment de plasmode et le dépose sur la surface de la gélose non nutritive : le fragment bourgeonne et s'étale rapidement formant un plasmode avec nappe d'écoulement et réseau veineux ; on a, évidemment, des raisons de penser que, si le fragment plasmodial ayant servi à l'ensemencement était pollué, à sa surface, de germes bactériens, ceux-ci se sont multipliés moins vite sur le milieu sans éléments nourriciers, que ne s'est étalé le plasmode. La nappe d'écoulement doit donc être, sinon aseptique, du moins plus propre que le fragment initial ; on peut dès lors espérer, en ensemençant une partie de cette nappe sur un milieu neuf de gélose stérilisée, puis en séparant encore une fois, pour la reporter sur un troisième milieu, la nappe d'écoulement du nouveau plasmode et en multipliant, si possible, ces passages, obtenir, avec de la chance, un fragment plasmodial aseptique.

Lorsqu'on suppose atteint ce résultat, on transfère ce fragment sur le milieu nourricier dont HOWARD indique la composition :

Farine d'Avoine roulée	30 gr.
Gélose.....	15 gr.
Eau.....	1.000 cm ³

Ce milieu, répandu dans des boîtes de Petri et stérilisé à l'autoclave pendant 20 minutes à 115-120°, peut donner des plasmodes florissants, mais il est très putrescible et le développement des microorganismes gêne ou même inhibe celui du Myxomycète.

La grande amélioration que nous souhaitions apporter à la méthode de HOWARD était l'obtention de cultures pures, aussi avons-nous multiplié les essais et redoublé de précautions. Malgré ces efforts, nous n'avons pu débarrasser complètement le plasmode des microorganismes qui adhèrent à sa surface ni, par conséquent, obtenir la pureté bactériologique.

La méthode de HOWARD reste donc un procédé d'entretien du plasmode de *Physarum polycephalum* et n'est pas une technique de culture pure ; aussi avons-nous cherché à la simplifier en essayant d'autres milieux.

ESSAI DE NOUVEAUX PROCÉDÉS. — Nous nous sommes adressée à des substrats non nutritifs et imputrescibles. Il est alors nécessaire de fournir fréquemment au plasmode de *Physarum polycephalum* un aliment convenable : nous avons utilisé le « Quaker Oats ». Ce produit alimentaire, qui semble correspondre au « Rolled Oats » de HOWARD,

est composé de grains d'Avoine écrasés : une partie de l'amidon et du tégument, ainsi que la couche aleurique sont conservés. Nous offrons quotidiennement au plasmode quelques fragments secs de ce produit au voisinage de la nappe d'écoulement. Le plasmode recouvre rapidement et longuement chaque fragment nutritif puis, après son séjour, il laisse une pellicule assez mince, comprenant le tégument du grain de Quaker, aux cellules allongées et régulières, et l'assise aleurique, colorable par le réactif de Millon. Il semble donc que l'amidon soit seul ingéré : on le retrouve à l'intérieur des plasmodes sous forme de grains caractéristiques, colorés en bleu par le réactif iodo-ioduré.

Les substrats que nous avons essayés sont de trois sortes : gélose additionnée de sels minéraux, disque de bois, papier.

Gélose additionnée de solutions de sels minéraux. — Les solutions minérales que nous avons utilisées répondent à trois formules, correspondant à des pH différents.

La première est une solution physiologiquement équilibrée, assez voisine de celle de Ringer, mais beaucoup plus diluée, elle comprend :

Cl Na.....	0 g 6
Cl K.....	0,1
Cl ² Ca.....	0,1
CO ³ HNa.....	0,1
H ² O.....	1.000 cm ³

son pH est voisin de la neutralité, du côté alcalin.

Les autres solutions diffèrent de la précédente par la présence de substances tampons qui assurent la fixité de la réaction ionique du milieu. Voici leur composition :

Type A ou monopotassique	Type B ou bipotassique
Cl Na..... 0 g 6	Cl Na..... 0 g 6
Cl ² Ca..... 0,1	Cl K..... 0,1
Cl K..... 0,1	PO ⁴ K ² H..... 2
PO ⁴ KH ² 2	
pH entre 4,8 et 5,0	pH entre 7,6 et 7,8

La gélose est employée à raison de 20 grammes pour 1.000 centimètres cubes de solution minérale et placée dans des boîtes de Petri, puis stérilisée à 115°-120° pendant 20 minutes.

Les ensemencements ou repiquages se font de la manière suivante : on détache, à l'aide d'un scapel, une partie de la surface plasmodiale (avec l'ancien milieu sur lequel elle vivait, pour faciliter le transport) et dépose ce fragment sur un substrat neuf. Bientôt, le plasmode quitte

son ancien substrat, qu'il est alors facile d'enlever, et s'étale très largement sur le nouveau milieu qu'il recouvre sans l'attaquer sensiblement : la surface reste lisse, on n'observe aucune corrosion. Des mesures de pH du milieu, avant et après séjour prolongé du plasmode, mettent en évidence une acidification du substrat, lorsque la solution est du type Ringer. Au contraire, s'il s'agit des milieux A ou B, les variations de pH ne dépassent pas 0,2 unités.

Le milieu qui semble le mieux convenir au plasmode de *Physarum polycephalum* et que nous avons employé avec la plus grande extension, est celui du type Ringer. Ce procédé, sans être parfait, est du moins simple et pratique. Il nous a fourni, pendant six mois, des cultures régulières et florissantes. Aussi nous croyons-nous autorisée à recommander cette méthode de culture qui permet l'entretien prolongé, la prospérité des plasmodes de *Physarum polycephalum* et leur sporulation, en exigeant un minimum de travail : en effet, le milieu se prépare facilement et s'infecte très peu, sa consistance est suffisante pour le repiquage, l'humidité convenable de la culture est assurée par la gélose, seule l'alimentation requiert quelques instants chaque jour et il doit être possible d'espacer davantage les soins.

Quant aux milieux A et B, ils permettent l'entretien des plasmodes de *Physarum polycephalum* ; mais A paraît un peu moins favorable que le milieu du type Ringer et B, encore toléré par le plasmode, semble convenir beaucoup moins bien. Cette préférence de l'organisme pour les pH plus bas n'est pas surprenante : dans la nature, il habite le bois pourri dont la réaction est acide.

Quoiqu'il en soit, ceci montre que *Physarum polycephalum* supporte une gamme assez étendue de pH et qu'il n'est pas sensiblement intoxiqué par la présence de l'ion $(PO_4)^{3-}$ à la dose de 2 %.

Autres milieux. — Nous avons essayé aussi de faire vivre le plasmode sur disque de bois de Hêtre en utilisant la technique préconisée par MANGENOT pour la culture de *Fuligo septica*, et dont les détails seront donnés plus loin. Le plasmode se développe bien dans ces conditions et peut sporuler ; mais il n'est pas arrêté par la barrière externe de paraffine, même sèche.

Un autre essai a consisté à mettre dans le fond d'une boîte de Pétri un disque de papier Chardin (papier filtre de cellulose pure). Les cultures sont fréquemment humectées par une solution de Ringer diluée.

Ce procédé permet la croissance et la sporulation de *Physarum polycephalum* ; nous lui préférons la gélose qui maintient une humidité constante, mais il est indéniable qu'il constitue la plus simple des techniques.

On peut rapprocher cette méthode de celle préconisée par CAMP, en 1934.

Ainsi la sporulation peut survenir sur tous ces milieux. Voici les moyens simples que nous avons employés quand il convenait de l'éviter. Tout d'abord le dédoublement du plasmode, suivi de repiquage de chaque moitié sur un nouveau milieu. Il faut agir rapidement dès l'apparition des premiers signes précurseurs de la sporulation (qui seront décrits plus loin) car, si l'on tarde, le repiquage devient inutile : le plasmode ne descend pas sur le substrat neuf et sporule sur place. On peut aussi, par un écrasement ménagé, aplatir les houpes : le protoplasme quitte alors la partie lésée et il se développe un beau front dans la partie opposée du plasmode ; ou sectionner les veines en de nombreux points : dans ce dernier cas la matière vivante s'échappe rapidement par la blessure et il se forme des gouttes protoplasmiques qui bourgeonneront de nouvelles arborisations végétatives.

Ces constatations semblent en désaccord avec celles de SKUPIENSKI qui écrit au sujet de *Didymium nigripes* : « Nous avons remarqué plusieurs fois qu'un plasmode dérangé avec une aiguille se met immédiatement en fructification sans que nous puissions savoir la raison de ce fait ». En ce qui concerne *Physarum polycephalum*, une action mécanique ne provoque pas la sporulation ; elle est par contre un excellent moyen de l'éviter.

Culture de *Fuligo septica*. — Pour *Fuligo septica*, nous avons suivi la technique de MANGENOT et fait l'essai de culture sur gélose.

TECHNIQUE DE MANGENOT. — Le fond d'une boîte de Petri est occupé par un disque de Hêtre de quelques millimètres d'épaisseur et de diamètre légèrement inférieur à celui de la boîte. Dans la cavité annulaire, qui existe entre la paroi latérale de la boîte de Petri et le pourtour du disque, on coule de la paraffine fondue. Au moment de la solidification de la paraffine, on veille avec soin à ce qu'elle adhère parfaitement au bois et au verre sans présenter aucune faille, ni pertuis.

Les repiquages se font au moyen d'un scalpel et à partir des plus grosses veines d'un plasmode dont on détache quelques fragments déposés ensuite sur le disque neuf. Peu à peu, les fragments bourgeonnent un nouveau plasmode.

Le milieu est nettoyé et humecté journellement par une solution physiologique de Ringer diluée 10 fois (1) et, environ tous les deux jours, le plasmode est alimenté soit par de petits fragments de Levure de boulangerie soit par des carpophores cuits ou très décomposés d'Hyménomycètes (nous avons utilisé *Agaricus campestris*).

Cette méthode est simple et pratique. Le substrat a le grand avantage de ne s'infecter que discrètement et, de plus, comme la

• (1) Il faut avoir soin de maintenir constamment sèche la paraffine périphérique qui est un obstacle à l'évasion du plasmode.

sporulation de *Fuligo septica* ne s'y produit jamais, les cultures peuvent être conservées sans repiquage pendant un temps très long. On les obtient, ainsi, régulières et très prospères, mais non aseptiques.

CULTURE SUR GÉLOSE. — Nous avons utilisé la gélose à raison de 15 à 20 grammes pour 1000 centimètres cubes d'une solution voisine de celle de Ringer dont la composition a déjà été donnée au sujet de la culture de *Physarum polycephalum*; l'aliment fourni au plasmode était la levure de boulangerie. On assure, par ce moyen, l'entretien des plasmodes mais leur développement nous a semblé inférieur à celui obtenu par le procédé de MANGENOT.

A la différence de *Physarum polycephalum* le plasmode de *Fuligo septica* corrode notablement la gélose : on retrouve sur la surface du milieu, le tracé en creux du plasmode et, de plus, sous la parcelle de levure qui lui sert d'aliment, une cavité anfractueuse et profonde est creusée. On ne pourrait expliquer la présence de cette cavité par l'action digestive de certaines Bactéries, puisqu'elle est localisée en un point précis et ne se manifeste pas dans les cultures comparables de *Physarum polycephalum*. Il s'agit d'une attaque par le plasmode, particulièrement intense au point où il séjourne beaucoup plus longtemps qu'ailleurs, en raison de la présence de l'aliment, attaque probablement due à la sécrétion d'une diastase, la « gélase », dont SKUPIENSKI a supposé l'existence.

Technique des cultures additionnées de colorants vitaux.

Dans le but d'étudier la toxicité de quelques colorants vitaux, nous avons réalisé des cultures de plasmodes sur milieux colorés.

Les colorants vitaux utilisés sont le rouge neutre, le bleu de crésyle, le brun de Bismarck.

Nous envisagerons successivement les expériences relatives à *Fuligo septica* et celles concernant *Physarum polycephalum*.

FULIGO SEPTICA. — On prélève sur un même plasmode des fragments de veines qu'on répartit également entre deux milieux nouveaux : l'un constitué de gélose avec Ringer dilué additionné de rouge neutre, puis stérilisé; l'autre ne différant du précédent que par l'addition de bleu de crésyle à la place de rouge neutre.

Les premières expériences que nous avons réalisées utilisaient une concentration de 1/3.000 en colorant vital.

Nous avons ensuite expérimenté sur des milieux comportant 1/6.000 de colorant vital.

Dans chacun des 2 cas, les plasmodes, nourris de levure de boulangerie, maintenus à la température de 18° à 20°, à l'abri de la lumière, sont observés très régulièrement et chaque jour on note soigneusement leur comportement.

PHYSARUM POLYCEPHALUM. — Nous avons fait trois groupes d'expériences.

Le premier, que nous appellerons groupe α , utilise à peu près la même technique que celle indiquée plus haut pour *Fuligo septica*, avec ces différences que la dose de colorant a toujours été de 1 gr. pour 6 litres de Ringer, que l'aliment consistait en fragments secs de « Quaker Oats » et que nous avons fait usage pour quelques cultures des boîtes de Pétri dont le fond est percé d'une ouverture circulaire de 3 centimètres de diamètre obturée par une lamelle mince fixée au bitume de Judée (procédé du laboratoire de Baarn).

Le deuxième groupe, ou groupe β , comprend des expériences réalisées sur papier filtre Chardin teint au moyen de solutions physiologiques tamponnées par le phosphate monopotassique (dont la composition a été donnée plus haut « type A ») additionnées de rouge neutre, ou de bleu de crésyle dans la proportion de 1/6.000.

L'ensemencement se fait soit au moyen de veines comme pour *Fuligo septica*, soit, le plus souvent, en partageant une même souche en deux parties équivalentes : l'une des moitiés est placée sur le rouge neutre, l'autre sur le bleu de crésyle.

Dans les deux groupes d'expériences, les cultures sont maintenues à l'obscurité et à la température de 18° à 20° et les plasmodes observés quotidiennement : on note la surface qu'ils occupent, les traits principaux de leur aspect, c'est-à-dire l'importance des veines par rapport aux fronts, les digitations, les nappes, etc., enfin leur couleur et la réaction à l'aliment fourni.

Le troisième groupe d'expériences (groupe γ) est réalisé sur des substrats de gélose au Ringer additionné de brun de Bismark, répandus en boîtes de Petri ordinaires ou modifiés en vue de l'examen microscopique à l'immersion. La dose de colorant employée, semblable à celle du rouge neutre, a toujours été de 1/6.000. Les cultures, nourries de Quaker Oats, étaient gardées à l'obscurité, à la température de 20° environ.

Techniques d'observation.

Les méthodes d'observation sont différentes si on désire étudier la morphologie du plasmode ou sa cytologie.

Dans le premier cas, nous avons fait usage du microscope binaire qui fournit une image droite de l'objet et conserve le relief : il permet des observations de l'aspect extérieur du plasmode infiniment plus détaillées qu'à l'œil nu, et convient aussi pour l'étude des courants cytoplasmiques.

Dans le domaine de la cytologie, nous avons appliqué de nombreuses méthodes qui peuvent, semble-t-il, se ramener à trois grands

groupes : étude vitale et post-vitale, réactions microchimiques, fixations et colorations.

Etude vitale et post-vitale. — Cette étude peut se faire directement, sans coloration, mais elle est grandement facilitée par l'emploi des colorants vitaux qui se fixent électivement sur telle ou telle enclave cellulaire.

Dans les deux cas on peut opérer sur des fragments plasmodiaux détachés de l'organisme, écrasés avec précaution entre lame et lamelle et observés dans les conditions ordinaires de l'examen microscopique. Cette méthode ne convient bien qu'à l'observation des inclusions paraplasmiques résistantes, telles les granulations pigmentaires ou calcaires (dont l'étude doit être complétée au microscope polarisant); elle laisse apercevoir les noyaux, sans aucun détail, et nous a servi pour l'examen des vacuoles dans les spores avec coloration au rouge neutre et au bleu de crésyle (1).

Quant aux vacuoles, il est préférable de les observer directement sur des plasmodes cultivés en milieux colorés et qui ne subissent aucune lésion ni préparation spéciale, ce qui permet aussi de percevoir les courants du cytoplasme. Dans ce but, nous avons fait appel à deux méthodes : l'une met en jeu le dispositif « Ultropak » de Leitz, déjà utilisé par MANGENOT, qui permet l'examen microscopique à l'immersion (à eau) en lumière réfléchie; dans l'autre cas, on fait usage des boîtes de Pétri modifiées dont nous avons donné la description, qui ont été employées par GUILLIERMOND : il suffit de retourner la boîte et d'observer au microscope, avec un objectif à immersion, les portions de plasmode qui ont atteint la lamelle.

Réactions microchimiques. — ÉTUDE DU GLYCOGÈNE. — Un essai est d'abord pratiqué sur des fragments de plasmodes écrasés entre lame et lamelle et traités par le réactif iodo-ioduré. Si on observe quelques colorations d'un brun acajou qui laissent supposer l'existence de glycogène, on fixe des éléments dans l'alcool absolu, et après inclusion dans la paraffine, les pièces sont coupées à 6 μ d'épaisseur et traitées par le réactif iodo-ioduré dilué. Pour conclure à la présence du glycogène, il faut obtenir d'une part un contraste bien net entre la teinte ocracée des enclaves étudiées et la couleur jaune paille du cytoplasme, et d'autre part la disparition des enclaves par hydrolyse. Aussi réalise-

(1) L'essai d'observation vitale du chondriome par le vert Janus a montré que cette méthode ne peut s'appliquer au plasmode de *Physarum polycephalum* : le matériel est opaque et son observation microscopique nécessite un écrasement qui, malgré les précautions, achève de tuer l'élément déjà lésé par la présence du colorant toxique.

tion, sur d'autres préparations, l'hydrolyse par l'amylase salivaire pendant une heure environ, à 40°, tandis qu'un témoin est conservé pendant le même temps, à la même température, en présence d'eau distillée. A la fin de l'hydrolyse on fait subir l'action de la solution iodo-iodurée.

D'autres méthodes peuvent confirmer les résultats de celle-ci, qui est la méthode de Claude Bernard, mais en aucun cas ne doivent lui être substituées : il s'agit de la coloration au carmin de Best et de la méthode de Bauer.

ÉTUDE DE LA MÉTACHROMATINE. — La première méthode que nous avons appliquée est celle de GUILLIERMOND : elle met en jeu la propriété que possèdent les précipités de métachromatine obtenus après fixation par l'alcool ou le formol, de faire virer au rouge les colorants bleus basiques d'aniline : on s'adresse au bleu de crésyle en solution à 1 %.

La seconde est la réaction de Meyer : après coloration au bleu de méthylène, on différencie par l'acide sulfurique à 1 % qui décolore tout, sauf les corpuscules métachromatiques, de couleur noire.

Fixation et coloration. — Les objets sont fixés, pendant un temps déterminé puis soumis à un lavage à l'eau courante suivi de déshydratation très progressive, aboutissant à l'inclusion dans la paraffine. Le bloc est alors débité en coupes de 5 μ d'épaisseur que l'on traite ensuite par des colorants appropriés; enfin les objets sont montés au baume du Canada.

Nous avons appliqué cette technique à la recherche du noyau et du chondriome.

ÉTUDE DU NOYAU. — Divers fixateurs ont été utilisés. Voici leur composition et les modalités de leur emploi :

Liquide de Helly :

Bichromate de potassium.....	3 gr.
Chlorure mercurique.....	5 gr.
Eau.....	100 cm ³

Au moment de l'emploi, on ajoute, à 9 cm³ du réactif, 1 cm³ de formol neutre à 40 %.

La fixation dure de 12 à 24 heures puis on lave à l'eau courante pendant 24 heures.

Liquide de Flemming :

La fixation dure 24 heures, elle est suivie d'un lavage à l'eau courante pendant le même temps.

Liquide de Bouin :

Formol.....	1 partie
Eau.....	3 parties
Acide picrique.....	à saturation.

Au moment de l'emploi, on ajoute 5% d'acide acétique cristallisable.

La fixation dure 12 à 24 heures puis, après un lavage à l'eau courante pendant 24 heures, on prolonge, au cours de la déshydratation, le séjour dans l'alcool à 95° jusqu'à blanchissement complet ou presque complet de l'objet, afin d'enlever l'excès d'acide picrique.

Les colorations ont été effectuées suivant deux méthodes :

Méthode de Feulgen. — Elle s'applique au matériel fixé par le liquide de Helly. Après hydrolyse de 25 minutes par l'acide chlorhydrique normal, à la température de 58°, on traite par le réactif de Schiff pendant 2 heures 1/2 au minimum. Grâce à l'hydrolyse préalable, l'acide thymonucléique et ses dérivés recolorent le réactif de Schiff : les noyaux apparaissent en violet, et la gélose, ainsi que certaines substances celluloso-pectiques des Algues, se colore en rose. Les éléments acidophiles du matériel sont ensuite colorés par le vert lumière.

Traitement par l'hématoxyline. — Il peut être employé après tous les fixateurs que nous avons utilisés.

Après mordantage, les coupes sont traitées par une solution alcoolique d'hématoxyline, puis on différencie par une solution d'alun de fer. On colore ensuite par une solution d'érythrosine.

RECHERCHE DU CHONDRIOME. — Le *liquide de Helly* nous a donné de bons résultats avec traitement à l'hématoxyline et coloration à l'érythrosine. Nous avons aussi employé le *liquide de Regaud* fabriqué de la façon suivante : on mélange au moment de l'emploi :

Bichromate de potassium 3 %	4 parties
Formol 35 %	1 partie

Les éléments séjournent 4 jours dans le fixateur qui doit être changé en cas de trouble, puis sont postchromés dans une solution de bichromate de potassium à 3 %. Après coupe, le matériel est traité par l'hématoxyline suivant les indications précédemment données.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES

Nous envisagerons successivement les formes, les dimensions et la couleur des plasmodes.

Formes

Les plasmodes de Myxomycètes sont doués de mouvement et leur forme se remanie sans cesse : au cours d'observations prolongées en

vue de dessins, il n'est pas rare de voir le protoplasme évacuer une région épaisse et massive, qui progressivement s'amenuise, tandis qu'à l'opposé du plasmode le diamètre des éléments augmente. On considère généralement ces thalles de Myxomycètes comme très primitifs et dépourvus d'organisation. JAHN a discuté cette opinion dans un Mémoire récent, relatif au plasmode de *Badhamia utricularis*, dans lequel il distingue cinq zones réparties en trois régions :

La région du front, avec une première zone de poussée et une deuxième ou nappe protoplasmique, puis la région de l'étalement et, enfin, la région des artères comprenant la zone du réseau et celle des grandes artères qui restent. D'après cet auteur, la diversité morphologique correspond à une différenciation interne.

Ici, nous nous sommes attachée à l'observation des formes diverses que prennent les plasmodes pendant leur existence et, puisque les variations sont beaucoup plus nettes chez *Physarum polycephalum* que chez *Fuligo septica* (peut-être parce que ce dernier reste constamment végétatif sur le substrat où il est cultivé), nous avons surtout



FIG. 1. — Figure demi-schématique exécutée d'après nature (réduction : 1/5) montrant le réseau serré que peuvent former les veines du plasmode de *Physarum polycephalum* (culture sur décoction gélosée d'Avoine).

étudié la première espèce et décrivons les aspects les plus saillants qu'elle présente, bien qu'il existe entre eux de nombreux intermédiaires.

L'élément constant est un système de veines plus ou moins épaisses formées de matière vivante dont la couche externe développe une tension superficielle manifestée par la formation de gouttes sphériques lors de la section des veines, et dont la couche interne est agitée de courants cytoplasmiques qui seront étudiés à la fin du paragraphe.

Les veines, d'abord rectilignes et presque parallèles, dessinent des méandres et se ramifient en veinules de plus en plus fines qui s'anasto-

mosent pour former un réseau parfois très compact (fig. 1). A l'extrémité des veines, la matière vivante s'étale en spatule ou se renfle en massue. Si le protoplasme est fluide, il s'écoule rapidement dans les veines et forme à leur extrémité de larges spatules qui deviennent coalescentes, on voit ainsi, à l'avant du plasmode, ou front, une nappe homogène. Ce front continu, épais, de contour net est le plus propice à recevoir l'aliment : il aborde rapidement les fragments nutritifs mis à son contact et le protoplasme afflue en ce point. Dans un délai de deux heures environ, le front recouvre le fragment, puis le dépasse; au cours des jours suivants, l'aliment reste recouvert par le plasmode

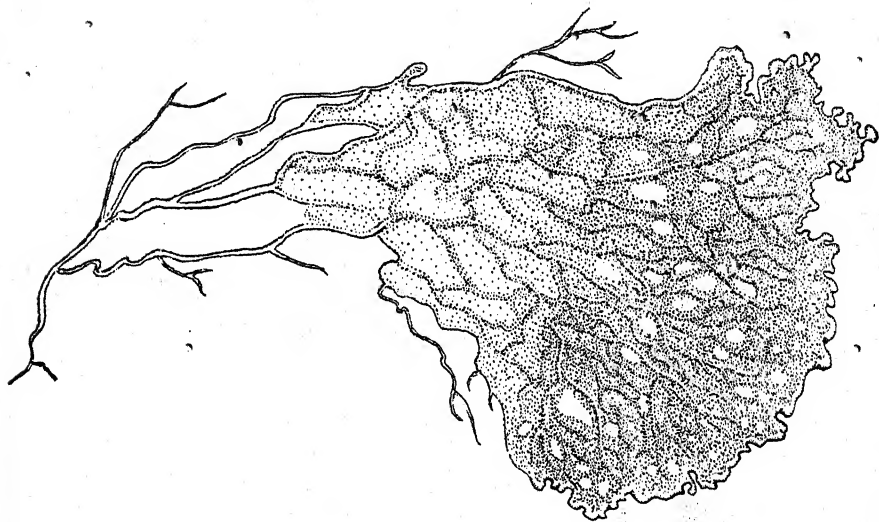


FIG. 2. — Plasmode représentant le type le plus couramment observé sur gélose non nutritive. On distingue un front épais et continu, un réseau serré de veinules, et quelques grosses veines peu ramifiées à l'arrière.

(Demi-schématique; d'après nature; réduction : 1/5).

dont le front s'éloigne de plus en plus de lui; finalement, la parcelle alimentaire occupe l'arrière du plasmode : elle garde contact avec quelques veines terminales qui, peu à peu, l'évacuent, abandonnant une pellicule informe. En dehors du front, l'attaque de l'aliment est beaucoup plus lente : au niveau d'une veine, la particule nourricière reste longtemps négligée.

La forme que nous venons de décrire et qui comprend une nappe frontale homogène et un réseau veineux serré que terminent, à l'arrière, quelques grosses veines principales est très fréquente chez les plasmodés cultivés sur gélose pure (fig. 2); elle rappelle beaucoup celle de *Fuligo septica* entretenu sur disque de bois.

Dans d'autres cas, la ligne frontale est continue; mais la nappe n'est pas homogène : on peut suivre jusqu'au bout le trajet des veines qui restent adjacentes et ne se confondent pas, leurs extrémités élargies s'adossent mais les protoplasmes, plus visqueux, ne se mélangent pas.

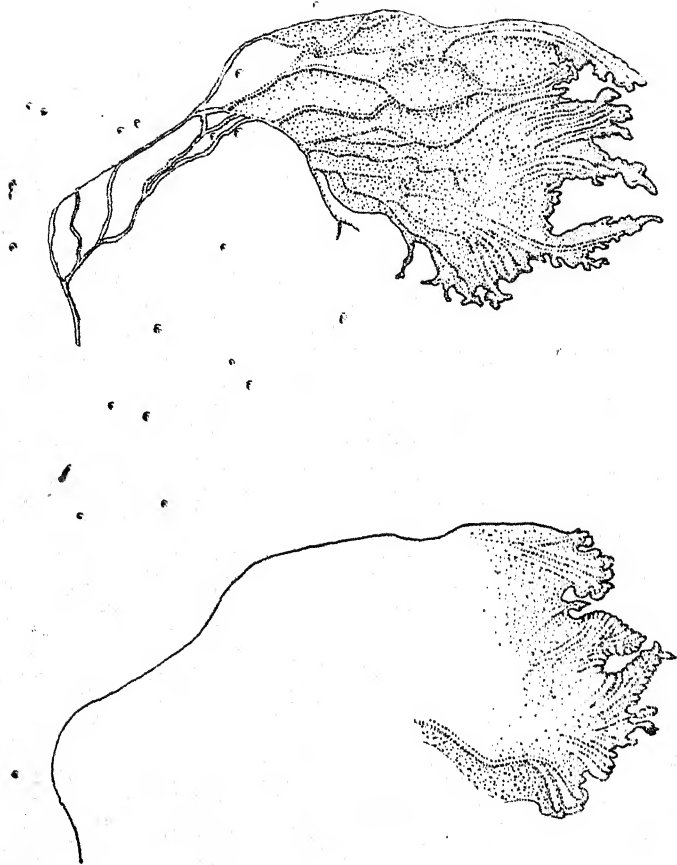


FIG. 3. — Deux aspects du même plasmode dessinés à 15 minutes d'intervalle. Les veines se terminent en languettes qui ne confluent pas.
(Réduction de 1/5 ; demi-schématique ; dans le deuxième cas, on n'a figuré que le front.)

Ces formes sont très mouvantes ainsi que l'attestent les deux dessins du même plasmode exécutés à 15 minutes d'intervalle (fig. 3).

Ailleurs, les spatules d'écoulement sont complètement isolées et la région frontale, extrêmement découpée, affecte la forme de dendrites très fins et très délicats. Cet aspect semble annoncer l'état de jeûne du plasmode; nous l'avons souvent rencontré chez des organismes végétant sur milieu gélosé avec phosphate bipotassique (fig. 4).

Parfois, on observe des sortes de seracs capables de se mettre en contact avec le couvercle de la boîte de Pêtri pour former des colonnettes ou des piliers, ou des thalles constitués de veines longues et rigides, sans front développé, émettant çà et là de petites arborisations ou digitations grêles qui ne s'étalent pas et restent groupées autour de l'aliment : forme de souffrance que revêt l'organisme quand le milieu s'infecte.

La phase végétative de la vie des Myxomycètes se termine à la sporulation. Le plasmode fait place aux sporanges. Les énergides se séparent, s'individualisent en cellules protégées, par une paroi, contre les agents extérieurs et attendant, à l'état de vie ralentie, les conditions favorables à leur germination.



FIG. 4. — Plasmode très découpé, front grêle et dendritique (réduction : 1/5).

Chez *Physarum polycephalum*, la sporulation s'annonce, quelques jours à l'avance, par une modification de forme du plasmode qui arrête sa croissance, néglige l'aliment, se resserre; les veines se dilatent et semblent congestionnées; les fronts se rassemblent en houppes dressées ou bouquets de digitations. La sporulation commence par la formation de globules distincts, à partir de la masse protoplasmique de couleur jaune vif. Peu à peu, ces globules grossissent aux dépens du reste du plasmode qui se vide progressivement, laissant, sur le substrat, une trace verdâtre. Puis, lorsque tout le plasmode a émigré dans les globules, ils atteignent la taille d'une grosse tête d'épingle et sont complètement séparés les uns des autres. Progressivement, les globules se dressent verticalement en forme de hampes terminées en massues de couleur et de consistance identiques au plasmode (fig. 5, A).

Peu à peu, le renflement supérieur de la hampe se transforme en une tête sphérique, d'un jaune vif (fig. 5, B, C, D), plus ou moins aplatie et circonvolutoe : c'est le sporange, nettement distinct du pied ou stipe effilé, de teinte orangée. Lentement, la couleur du sporange fonce : il devient chamôis, puis brun, enfin noir.

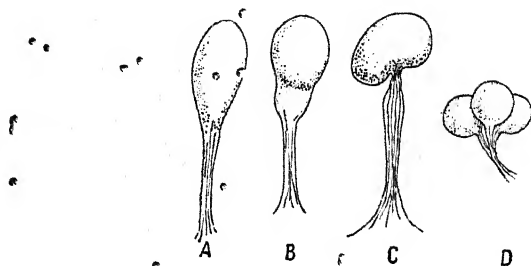


FIG. 5. — Sporangies en formation (grossissement : 15 environ).

A : hampe protoplasmique très peu différenciée.

B et D : sporanges en voie de différenciation : on commence à distinguer le sporange proprement dit et le stipe.

C : sporange complètement formé, mais pas encore mûr.

Les spores qu'il contient présentent des aspects très variés : elles sont ovales, sphériques, en haltères ou très irrégulières, leur taille varie entre 8 et 34 μ (fig. 6). Ces diversités de forme et de taille tiennent à des accidents qui surviennent au moment du clivage des spores.

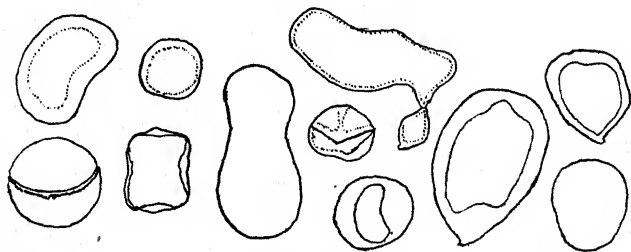


FIG. 6. — Spores de *Physarum polycephalum*. (Dessin très schématique, montrant seulement les contours). Grossissement : 1.000 environ.

Le véritable type est réalisé dans les spores les plus petites, mononucléées, sphériques.

D'autres anomalies résident dans la variabilité des sporanges. Le plus souvent, chaque sporange est porté par un stipe. Parfois, plusieurs sporanges se groupent sur un même pied qui, généralement trop faible, se courbe jusqu'à la surface du substrat. On observe aussi

des sporanges complètement sessiles : il ne se forme pas de hampes dressées et le globule initial non pédicellé évolue directement en sporange (fig. 7).

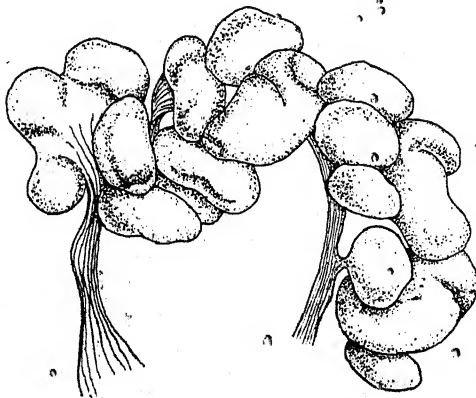


FIG. 7. — Groupe de sporanges de *Physarum polycephalum*.

Les stipes, trop faibles, rampent sur le substrat; la plupart des sporanges sont sessiles et de forme irrégulière. Grossissement : 15 environ.

Courants cytoplasmiques.

Le cytoplasme des plasmodes vivants de Myxomycètes est le siège de courants qui entraînent les corpuscules qu'il tient en suspension. Seule, la partie médiane de chaque veine est agitée de courants importants et toujours axiaux; le plus souvent, la largeur de la bande mouvante est le tiers de celle de la veine. Les deux bandes périphériques paraissent immobiles mais, à un très fort grossissement, on observe parfois, sur les bords, des grains de pigment qui s'agitent sur place; un peu plus loin du bord, ces déplacements s'orientent obliquement et le courant latéral se jette dans le courant central.

La vitesse des courants n'est pas constante : d'abord lent, l'écoulement s'accélère, atteint un maximum, puis se ralentit, parfois brusquement, et, enfin, le mouvement s'arrête. Après la stase, un nouveau courant naît, dont le sens est très généralement l'inverse du précédent; parfois il arrive pourtant que, deux fois de suite, l'écoulement s'effectue dans la même direction. La durée des courants est très variable dans une même veine. Voici quelques-uns des nombres recueillis à ce sujet : dans une première veine, temps d'écoulement observés sans interruption : 40''-60''-43''-57''-46''-48''-40''-54''-38''; dans une autre veine d'une région différente à un moment différent : 1'10''-1'45''-1'40''-15''; enfin, dans une troisième veine : 1'37''-1'7''-1'37''-1'22''-59''.

La durée des stases est généralement très courte, de l'ordre de 3". Pourtant, nous avons rencontré dans quelques cas des arrêts prolongés (30") dans des veines où nous avons observé d'abord des stases brèves. Peut-être faut-il voir ici un phénomène pathologique imputable aux conditions de l'examen microscopique.

Il serait intéressant de savoir si, dans toutes les veines d'un même plasmode, les courants naissent et s'arrêtent au même moment, comme le laissent supposer les pulsations rythmiques des Myxomycètes que révèle le cinématographe. En effet, filmés avec une accélération

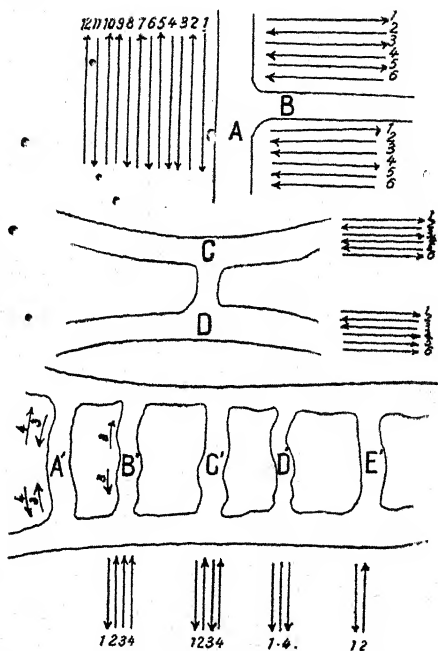


FIG. 8. — Le sens des courants est indiqué par une flèche. Les flèches qui portent le même numéro correspondent au même repérage.

Il y a décalages, dans le groupe A-B, aux nos 4, 9, 10, 12; dans le groupe C-D aux nos 4, 5, 6; dans le dernier groupe, aux nos 3 et 4.

En A' et B' on observe dans la même veine, deux courants simultanés de sens opposé.

En D', il y a arrêt des courants entre la 1^{re} et la 4^e observations.

convenable (SEIFRIZ; MANGENOT et OBATON), les plasmodes manifestent des mouvements rythmiques, de période parfaitement constante, et synchrones dans tout le plasmode qui semble alors un seul organe animé de systoles et de diastoles. C'est par ces mouvements que le plasmode avance sur le substrat à la façon d'une vague déferlant sur une plage.

Nous avons donc noté le sens des courants dans des veines voisines au cours d'observations successives séparées entre elles par quelques minutes. Les résultats sont schématisés dans la figure 8.

Il s'ensuit que les changements de sens se produiraient indépendamment les uns des autres dans des veines voisines, que les courants cytoplasmiques ne seraient pas synchrones dans un même plasmode et que, par suite, ils ne seraient pas en relation directe avec les pulsations vues au cinématographe.

Croissance et dimensions.

Dans la nature, les plasmodes des deux espèces envisagées atteignent des proportions relativement considérables. Au laboratoire, un organisme nouvellement repiqué est caractérisé par un fonctionnement physiologique intense : l'aliment activement consommé assure l'entretien et la croissance qui est, dans les conditions où nous avons cultivé les plasmodes, plus rapide dans le cas de *Physarum polycephalum* que dans celui de *Fuligo septica*. On peut se demander jusqu'à quel point cette croissance est prolongée et si les plasmodes sont capables d'atteindre de très grandes proportions quand on leur fournit régulièrement une alimentation convenable. Il n'en est rien : les plasmodes en culture ont des dimensions limitées et beaucoup plus réduites que dans la nature : ainsi nous n'avons jamais obtenu de plasmodes couvrant une surface circulaire supérieure à 18 cm. de diamètre pour *Physarum polycephalum* et à 15 cm. pour *Fuligo septica*, la largeur des veines maîtresses étant, dans ces cas, légèrement supérieure ou égale à 1 mm. Il est vraisemblable qu'en culture, l'organisme élimine des substances toxiques qui s'accumulent autour de lui et l'empêchent d'atteindre un plus grand développement. Au contraire, dans son habitat naturel, le plasmode éviterait cette intoxication en se déplaçant vers des régions nouvelles.

Comme beaucoup d'êtres inférieurs, les Myxomycètes sont sans cesse capables de rajeunissement. En effet, n'est-il pas possible de les diviser en deux ou plusieurs parties et chaque fragment, quel qu'il soit, ne bourgeonne-t-il pas un nouvel être qu'on pourra aussi dédoubler, et ainsi de suite, de génération en génération ? De cette manière, toute la matière vivante passe à la postérité sans laisser de parties qui vieillissent et meurent. En réalité, la mort des plasmodes peut survenir à la suite d'accidents multiples ; ainsi, on observe parfois qu'un plasmode bien vivant diminue brusquement et, en quelques jours, se réduit à un petit nombre de parcelles vouées à une mort plus ou moins rapide et dont le surface ne dépasse guère 1 mm² ; nous sommes disposée à croire qu'il s'agit d'autophagie, le plasmode se dévorant lui-même.

Couleur

- Dans la nature, les plasmodes de *Fuligo septica* peuvent être jaunes, blancs ou crème; ceux de *Physarum polycephalum* sont jaune vif. Au cours de nos cultures, la première espèce, initialement jaune, s'est presque toujours maintenue blanche; pourtant les plasmodes se pigmentent parfois de nouveau : généralement, ce phénomène est suivi de l'enkystement; mais, si on fournit une alimentation très abondante au Myxomycète, celui-ci ne forme pas de sclérote : il développe un large front, jaune verdâtre pendant quelque temps, puis complètement incolore. Ceci laisse supposer qu'au moment de l'enkystement, le plasmode de *Fuligo septica* est capable de fabriquer à nouveau un pigment jaune et l'opinion des auteurs qui admettent que la décoloration des plasmodes en culture provient de l'absence d'une substance chimique existant dans le bois pourri paraît ainsi contredite. La seconde espèce, par contre, reste colorée sur tous les milieux; mais elle subit des variations de teinte qui semblent en relation avec son état physiologique. Ainsi, en période végétative active, le plasmode est d'un jaune vif allant du jaune citron au jaune d'or; lorsqu'il tend à s'enkyster, il vire à l'orangé; enfin, au moment de la fructification, quand tout le protoplasme émigre dans les sporanges, il laisse sur le substrat une trace verte, probablement imputable à la diffusion d'un pigment vert, comme l'ont supposé SEIFRIZ et ZETZMANN; nous ajouterons que cette diffusion a été remarquée aussi lors de la mort d'un plasmode de *Physarum polycephalum* repiqué sur papier Chardin après infection sur milieu de Howard.

Les travaux de SEIFRIZ et ZETZMANN ont montré que le pigment de *Physarum polycephalum* est un indicateur de pH de 1 à 8 (rouge foncé orangé jusque jaune vert clair). Puis les auteurs ajoutent que dans le Myxomycète, le pigment sert d'indicateur et montre que le plasmode varie de pH 8 (fructification) à pH 1,6 (possible 1,2) quand se forme le sclérote.

Cette interprétation, répétée dans le *Traité* classique de SEIFRIZ, nous paraît tout à fait contestable car la couleur d'un plasmode ne renseigne que sur la réaction des corpuscules colorés eux-mêmes, c'est-à-dire des grains de pigment, qui sont des inclusions paraplasmiques, et non pas sur le pH intracytoplasmique : de même, on ne peut conclure à l'acidité d'un protoplasme lorsqu'il contient des vacuoles à anthocyane fortement colorées en rouge (1).

(1) Ces auteurs admettent que le pigment de *Physarum polycephalum* appartient au « groupe des flavones ou lyochromes, dont les flavines sont membres ». Nous rappelons qu'il ne faut pas confondre flavines et flavones : bien que *lyochromes* (solubles dans l'eau) les unes et les autres, flavines et flavones diffèrent profon-

CARACTÈRES CYTOLOGIQUES

En dehors du noyau, les constituants cytologiques des Myxomycètes sont peu connus; nous étudierons successivement : le noyau, les chondriosomes, les granulations calcaires, les grains de pigment, le glycogène, la métachromatine.

L'étude des vacuoles sera développée avec celle de l'action des coloraux vitaux.

NOYAU

Les plasmodes de Myxomycètes ont une structure cénocytaire : des noyaux innombrables sont répartis régulièrement dans une masse protoplasmique indivise.

Après l'étude du noyau quiescent, nous envisagerons la mitose survenant au moment de la sporulation.

Noyau quiescent.

Les noyaux du plasmode de *Physarum polycephalum* ont la forme d'une sphère de 3 à 4,5 μ de diamètre, présentant un délicat réseau de chromatine granuleuse que la méthode de Feulgen met bien en évidence par une coloration violette. Vers le centre, se trouve un gros granule de diamètre supérieur à 1 μ qui prend fortement le vert lumière : c'est le nucléole. Le noyau est séparé du cytoplasme par une fine membrane (fig. 9 a, b, c). Dans les plasmodes bien végétatifs, tous les noyaux sont identiques mais ils présentent toutefois une certaine plasticité puisqu'on observe des formes plus ou moins allongées (1).

Par contre, au moment de la sporulation, il existe deux types de noyaux bien distincts.

Les uns, fortement colorés en violet rouge par le Feulgen, avec parfois plusieurs petits nucléoles, sont parfaitement sphériques et de dimensions réduites, variant de 4 μ jusqu'à 1,5 μ . On n'y peut distin-

dément du point de vue chimique. Nous ne savons rien de positif quant à la constitution du pigment de *Physarum*; mais nous pouvons affirmer que le pigment jaune de *Fuligo* n'a rien de commun avec les flavines (recherches inédites de M. MIRIMANOFF et M^{lle} RAFFY sur une solution alcoolique du pigment de *Fuligo* obtenue par M. MANGENOT à partir de 50 grammes de kystes).

(1) Les noyaux du plasmode de *Fuligo septica* présentent les mêmes caractères morphologiques et structuraux et sont bien mis en évidence par la méthode de Feulgen; mais ils sont plus petits et, par conséquent, moins favorables à l'étude.

gner aucun réseau; ils paraissent complètement homogènes et en état de pycnose (fig. 9 *d, e, f*). Les plus petits, minuscules et punctiformes, sont d'une interprétation difficile; mais on perçoit entre eux et les plus gros tous les intermédiaires, ce qui ne laisse pas de doute sur leur identité.

Les noyaux du deuxième type sont, au contraire, plus grands que les noyaux quiescents normaux: leur diamètre peut atteindre $6,5 \mu$ et leur forme sphérique présente quelques irrégularités. Sur un enchylème très clair se détache un fin réseau assez faiblement chromatique que la technique de Feulgen colore en violet bleu pâle; ils ne paraissent pas avoir de nucléole et la membrane nucléaire semble très mince (fig. 9 *g, h, i*).

Les deux types de noyaux coexistent, soit dans le plasmode prêt à fructifier, soit dans les spores individualisées; ils n'occupent pas de régions distinctes mais semblent étroitement mêlés.

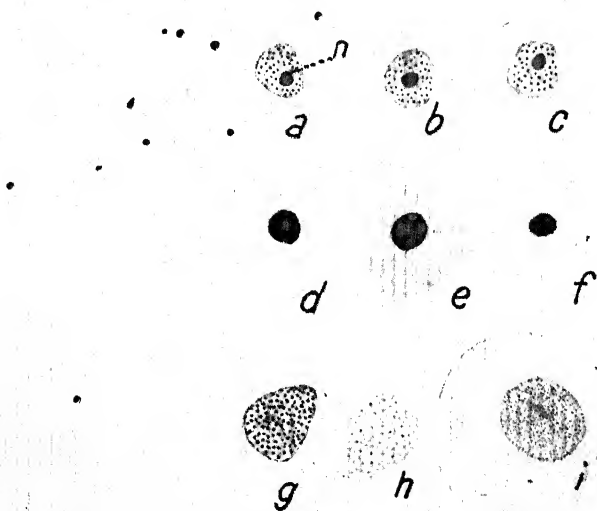


FIG. 9. — Étude du noyau. Grossissement 2.000
a, b, c — Noyaux quiescents observés dans un plasmode végétatif. *n*, nucléole.
d, e, f — Noyaux dégénérescents présents au moment de la sporulation.
g, h, i — Noyaux géants observés au même moment (*i* et *f* coexistent dans la même spore).

La diversité de formes des noyaux avant la sporulation a déjà été signalée par HARPER et DODGE chez *Hemitrichia clavata* et par HOWARD chez *Physarum polycephalum*. Ces auteurs en donnent l'interprétation suivante: les premiers noyaux sont en voie de dégénérescence; les seconds commencent à se diviser et sont au tout

premier temps de la prophase. Ajoutons que nous n'avons pas observé de figures rappelant des fusions nucléaires, comme JAHN en a décrit chez certaines espèces de Myxomycètes.

Mitose.

L'examen de matériel fixé au moment de la sporulation a permis, dans quelques cas, de suivre les phases de la mitose : chaque fois que l'on a la chance — ce n'est pas très fréquent — de rencontrer ce processus, on observe côte à côte d'innombrables figures mitotiques toutes semblables; ici, comme chez de nombreux organismes eucaryotiques, les mitoses qui se déroulent dans un vaste territoire cytoplasmique sont très remarquablement *synchrones*.

La *prophase* est difficile à distinguer, parce que la chromatine du noyau quiescent est déjà organisée en réseau granuleux. Pourtant, il semble que dans certains cas, on ait affaire à une prophase assez caractérisée (fig. 10 a, b, c) : la chromatine se rassemble en quelques masses bien distinctes groupées au centre du noyau le nucléole et la membrane nucléaire ont disparu; on ne voit pas de centrosome.

La *métaphase* est très nette : la plaque équatoriale occupe le centre du noyau; les chromosomes qui la constituent paraissent plus ou moins coalescents : ils se réunissent en plusieurs groupes, mais la plaque équatoriale n'est jamais continue et il est certain que le nombre chromosomique est assez élevé. La membrane nucléaire a disparu, de sorte que le nucléoplasme est directement en contact avec le cytoplasme. Perpendiculairement à la plaque équatoriale, on remarque un fuseau achromatique dont les fibres sont tendues d'un pôle à l'autre du noyau; à chacun de ceux-ci, on observe parfois très nettement un centrosome.

Ces détails, révélés par le fixateur de Helly, échappent sur les coupes traitées par la technique de Feulgen, mais sont bien mis en évidence par l'hématoxyline (fig. 10 d, e, f).

Les chromosomes et centrosomes sont colorés en brun noir, le cytoplasme et le fuseau sont roses (par l'éosine) et on distingue facilement les fibres fusoriales.

Les coupes fixées au Flemming et au Bouin ont donné de bons résultats également; cependant, ils ne nous ont pas permis de déceler les centrosomes.

Aussitôt après la métaphase l'amas chromosomique équatorial se dédouble en formant deux plaques parallèles qui s'éloignent synchroniquement de l'équateur du fuseau et gagnent les pôles : c'est l'*anaphase* (fig. 10, g, h, i, f).

La figure mitotique s'allonge alors et devient plus étroite; elle peut atteindre 8 μ en longueur et 2 μ en largeur. Dans les coupes fixées au

Helly et traitées à l'hématoxyline, chaque pôle du fuseau est occupé par un centrosome très net, ne pouvant être confondu avec une mitochondrie, mais mal distinct sur le matériel fixé au Flemming et au Bouin.

Enfin les chromosomes atteignent les pôles : c'est le début de la *télophase* (fig. 10 *k, l*), qui se termine par la reconstruction de deux noyaux-fils.

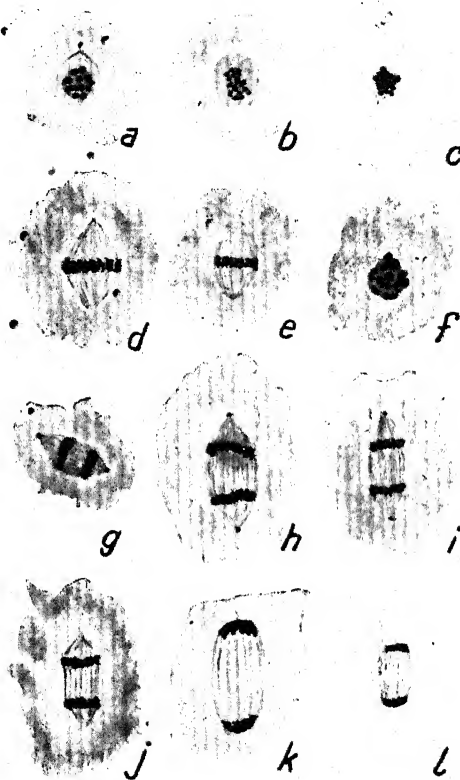


Fig. 10. — Mitoses. Grossissement 2.000.

a, b, c : Prophases.

d, e : Métaphases, vues latérales.

f : Métaphase, vue polaire.

g, h, i, j : Anaphases. On distingue, sur les trois premières figures (Helly), des centrosomes nets, invisibles sur la quatrième figure (Flemming).

k, l : Télaphases.

Avant de discuter sur la nature de cette mitose, signalons qu'il est assez fréquent de rencontrer des figures aberrantes : amas exceptionnellement volumineux de chromatine (fig. 10 *bis*) pouvant être interprétés comme des métaphases hyperchromatiques ou des noyaux quiescents gigantesques.

La mitose de *Physarum polycephalum* est donc une caryocinèse typique; le nombre des chromosomes est élevé et le fuseau achromatique très net. La membrane nucléaire paraît s'évanouir dès la métaphase. La présence des centrosomes remarquée par HOWARD après fixation au liquide de Bouin n'a été observée par nous qu'après fixation au Helly. Rien, dans cette mitose typique, n'indique un processus méiotique; nos observations confirmeraient donc, le point de vue suivant lequel la mitose n'interviendrait pas, chez les Myxomycètes, avant la formation des spores, mais au moment de la germination de celles-ci. Cependant, nous préférons ne pas prendre parti dans le litige qui s'est

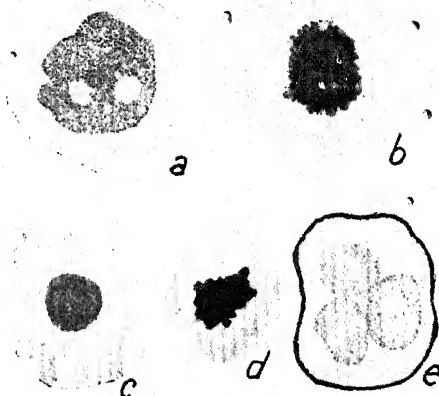


FIG. 10 bis. — Phases altérées de la mitose. Grossissement : 2.000.
e : Spore plurinucléée.

élevé sur ce point (VON STOSCH, JAHN) : les anomalies de sporulation que nous avons observées (formation de spores géantes, polynucléées, par délimitation de compartiments cytoplasmiques irrégulièrement volumineux; mitoses hyperchromatiques; noyaux géants), anomalies paraissant en rapport avec les conditions de milieu artificielles réalisées dans les cultures, ne nous permettent pas de conclure catégoriquement.

CHONDRIOME

Plusieurs auteurs ont étudié le chondriome chez divers Myxomycètes, jamais, cependant, semble-t-il, chez *Physarum polycephalum* : nous nous sommes proposé de l'observer d'abord dans les plasmodes en état de vie végétative, puis au moment de la sporulation et enfin, à l'intérieur des spores mûres.

Dans les trois cas, la forme des chondriosomes semble identique : il s'agit de grains ponctiformes, ou mitochondries, dont le diamètre varie approximativement de 0,3 à 1 μ (très rarement on rencontre de courts chondriocentes ou bâtonnets légèrement plus longs et plus

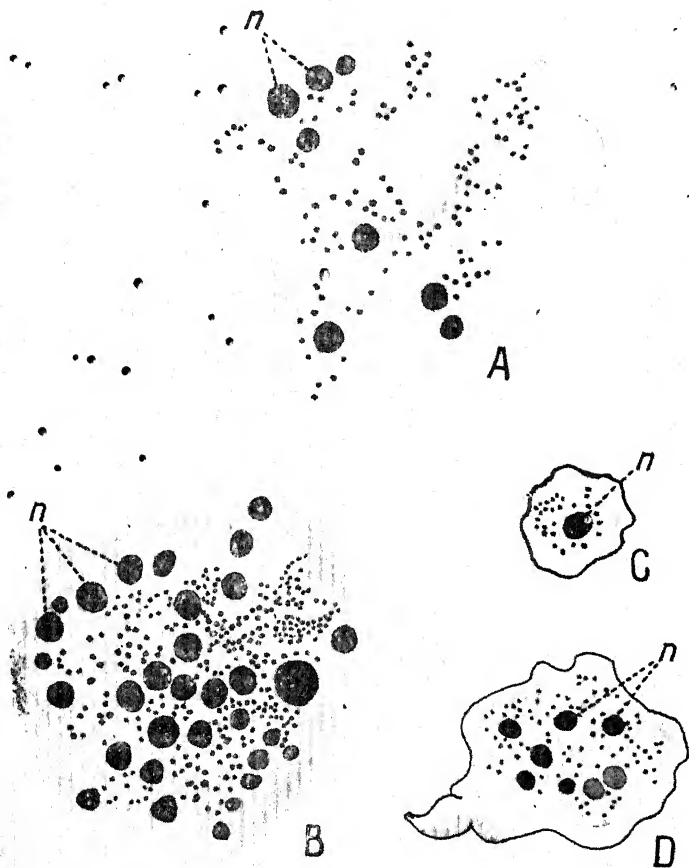


FIG. 11. — Chondriome de *Physarum polycephalum*.

A. Plasmode à l'état végétatif (Objectif immersion 1/16. Oculaire $\times 12$).

B. Plasmode prêt à sporuler. Grossissement : 1.000.

C. Spore mononucléée (Objectif immersion 1/16. Oculaire $\times 12$).

D. Spore plurinucléée. Grossissement : 1.000.

N. Noyau.

épais que les précédents). Tantôt isolés ou associés par deux ou trois, ils ne semblent pas se répartir en groupements prédominants.

Dans les spores, le chondriome existe (fig. 11, c et D), contrairement à ce que pensait VONWILLER pour *Lycogala epidendron* : la disparition du chondriome que cet auteur a observée au cours de la maturation des

spores tiennent vraisemblablement au fait que le fixateur traverse mal, ou fort peu, la membrane épaisse des spores mûres.

A l'égard des fixateurs, et en particulier de celui de Bouin, le chondriome de *Physarum polycephalum* présente une résistance remarquable; mais les fixateurs de Melly et de Regaud donnent les meilleurs résultats.

GRANULATIONS CALCAIRES ET PIGMENTAIRES

Dans les deux espèces étudiées, les corpuscules pigmentaires se distinguent des granulations calcaires : contrairement à l'opinion de DE BARY, l'association du pigment et du calcaire dans les plasmodes colorés des Physaracées n'est pas un fait général.

Granulations calcaires.

Physarum polycephalum, comme toutes les Physaracées, est une espèce calcarée; il semble pourtant que beaucoup de plasmodes ne comportent pas de calcaire, tout au moins dans les conditions où nous

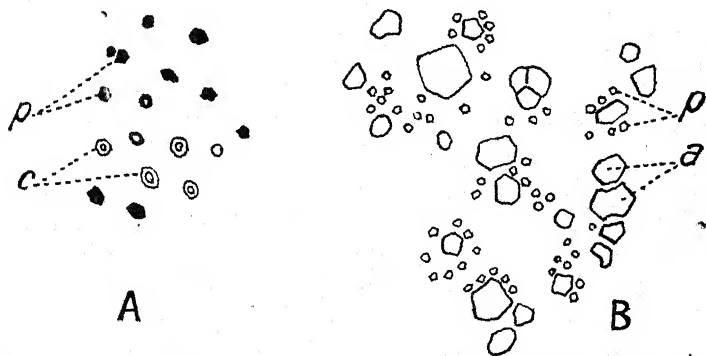


FIG. 12. — Granulations calcaires et pigmentaires de *Physarum polycephalum*.
p, Concrétions pigmentaires.
c, Concrétions calcaires.
a, Grains d'amidon.

les cultivons. Cependant, certains d'entre eux possèdent des grains incolores, très réfringents, de la même taille que les granulations pigmentaires, souvent creusés en leur centre d'une dépression circulaire et qui se dissolvent avec effervescence sous l'action des acides dilués : ce sont des granules calcaires (fig. 12, A).

Quant aux sporanges, ceux que nous avons étudiés étaient sans calcaire ou en contenaient très peu.

HOWARD a signalé une relation entre l'humidité du milieu et la pauvreté en calcaire du sporange; M. BUCHET (communication verbale) nous a fait la même remarque. Nos observations concordent avec ces données bien que nous ne puissions actuellement en fournir aucune explication.

Enfin les grains calcaires des plasmodes de *Fuligo septica* dont MANGENOT a donné la description n'ont pas été ici l'objet d'étude spéciale.

Granulations pigmentaires.

Les concrétions pigmentaires du plasmode de *Physarum polycephalum* sont de petits corpuscules directement suspendus dans le cytoplasme, d'une taille moyenne de 1 μ , polyédriques ou plus ou moins sphériques, amorphes car inactifs sur la lumière polarisée (fig. 12 A et B). Leur couleur est jaune.

Les acides sulfurique et azotique dilués les font virer au rouge orangé, les acides chlorhydrique et acétique les teintent en orangé, l'ammoniaque en vert pâle, la solution iodo-iodurée en orangé rougeâtre. Ils fixent les colorants vitaux : le rouge neutre les teinte en rouge, le bleu de crésyle, en vert.

Le pigment est soluble dans l'eau, dans l'alcool éthylique absolu, dans l'aldéhyde formique.

En ce qui concerne les grains de pigment de *Fuligo septica*, la description complète en a été faite par MANGENOT qui basa sur eux la distinction proposée entre les deux types de plasmodes jusqu'alors confondus dans l'espèce *Fuligo septica* et nommé provisoirement *Fuligo* α et *Fuligo* β : la première espèce, sur laquelle porte notre travail, ne montre généralement pas de grains de pigment puisqu'elle se décolore en culture.

GLYCOGÈNE

Dans le plasmode de *Physarum polycephalum*, les méthodes de recherche déjà décrites nous ont montré que le glycogène est présent et apparaît sous forme de plages qui s'étalent dans le cytoplasme et constitue parfois de grosses boules noyées dans la masse fondamentale.

A propos des plasmodes de *Fuligo septica*, nous avons réalisé les mêmes expériences; mais ici l'existence du glycogène est beaucoup moins sûre : dans les conditions où nous le cultivons, le plasmode est chargé d'ingesta divers, plus ou moins remaniés et colorés en brun, qui rendent plus difficile que dans les autres cas la diagnose du glycogène. Un fait paraît certain dans nos conditions de culture, le plasmode de *Physarum polycephalum* contient beaucoup plus de glycogène que celui de *Fuligo septica*. L'existence de glycogène dans le plasmode de

Fuligo septica a, d'ailleurs, été signalée par ERRERA, ENTCH et CLAUTRAU.

La recherche du glycogène, dans les kystes de *Fuligo septica* ne nous a pas permis d'y constater son existence; peut-être y existe-t-il dans des conditions de milieu différentes, ainsi que l'admettent ERRERA et ENTCH.

Enfin, dans les spores de *Physarum polycephalum*, nous n'avons jamais observé de glycogène.

L'application de la méthode de Claude Bernard a montré que le temps d'hydrolyse du glycogène de *Physarum polycephalum* est très voisin de celui du glycogène animal : d'après REILHES, le temps d'hydrolyse du glycogène des Levures serait incomparablement plus long, à la même température. Le glycogène existerait donc chez les Animaux et les Myxomycètes sous une forme beaucoup plus facilement hydrolysable que chez les Végétaux.

MÉTACHROMATINE

La métachromatine, substance probablement à base d'acide zymonucléique (M^{lle} DELAPORTE), est une matière de réserve chez la plupart des Champignons, des Bactéries, des Algues inférieures et des Protozoaires, dans les vacuoles desquels elle existe à l'état colloïdal.

On aurait pu penser que les Myxomycètes en contiennent aussi; or, nous ne connaissons aucune donnée à ce sujet. Les méthodes de recherche de la métachromatine ont donc été appliquées à l'étude du plasmode et des spores de *Physarum polycephalum* et du plasmode de *Fuligo septica*. Le plasmode de *Physarum polycephalum* donne une réaction négative avec le bleu de crésyle, après fixation au formol; on vérifie par la réaction de Meyer : elle est également négative.

L'observation des spores colorées par le bleu de crésyle a révélé quelques précipités rouges, suggérant l'hypothèse de la présence de métachromatine qui, d'ailleurs, ne serait pas incompatible avec son absence dans les plasmodes. Des réactions furent donc faites à nouveau suivant les techniques décrites et montrent que les précipités en question se rencontrent très rarement et ne sont pas constitués de métachromatine.

Enfin, dans le plasmode de *Fuligo septica*, les différentes techniques se recoupent et prouvent qu'il est dépourvu de métachromatine.

TOXICITÉ DE QUELQUES COLORANTS VITAUX

Après un bref travail sur *Fuligo septica* dont la réaction aux colorants vitaux a déjà été décrite par MANGENOT, nous avons abordé l'étude de la toxicité de quelques colorants vitaux sur *Physarum polycephalum*, jamais entreprise jusqu'alors.

Fuligo septica.

Les premières expériences que nous avons réalisées consistaient en essais de culture sur une gelée de gélose à la concentration de 1/3.000^e en colorant vital : rouge neutre ou bleu de crésyle.

Le premier jour qui suit le repiquage, les veines bourgeonnent, de part et d'autre, un petit plasmode qui attaque la parcelle de levure qu'on lui offre et se colore nettement en rouge sur les milieux au rouge neutre et en bleu vert ou bleu mauve dans les autres cas. Les cultures sur rouge neutre affectent toutes une forme circulaire dont le diamètre varie entre 3 et 5 mm. Celles sur bleu de crésyle ont, le plus souvent, une forme allongée qui couvre une surface d'environ 1 cm. sur 0,5 cm.

Le deuxième jour de culture sur milieux colorés, les plasmodes bleus prennent un aspect immobile et fixe; ils n'ont pas grandi, leurs courants cytoplasmiques sont très réduits, toutefois ils attaquent l'aliment et corrodent la gélose qui l'entoure. Les plasmodes au rouge neutre n'ont ni attaqué le fragment de levure mis à leur disposition, ni corrodé la gélose; l'un d'eux est complètement désorganisé.

Le lendemain, les plasmodes sur bleu de crésyle restent identiques et pendant quatre jours leur état est stationnaire : aucune consommation de levure, dimensions très faibles, courants cytoplasmiques imperceptibles. Pourtant, après ce délai, quelques plasmodes attaquent de nouveau très légèrement la levure et poussent des arborisations minuscules colorées en bleu clair, les courants cytoplasmiques s'y manifestent, mais sans grande intensité; les vacuoles sont colorées, souvent violacées, à cause de la gélose ingérée. C'est une survie sans prospérité, bien que les plasmodes consomment la levure et creusent la gélose.

Puisque la dose du colorant nous semblait trop forte, étant donné les effets toxiques dans les deux cas, nous avons réalisé de nouvelles expériences en utilisant chaque colorant à raison de 1/6.000.

Le comportement sur le rouge neutre est identique à celui des expériences précédentes : aliment négligé, pas de corrosion de la gélose, pourtant, ici, la mort est seulement certaine après 5 jours. Avec le bleu de crésyle, il y a survie avec quelque croissance, consommation de la levure, corrosion du milieu, et une des cultures a pu être conservée pendant 15 jours environ, mais sa croissance a été faible.

Ces expériences semblent confirmer les résultats que MANGENOT obtint par une autre méthode, sur les plasmodes de *Fuligo septica* : toxicité du rouge neutre supérieure à celle du bleu de crésyle.

Physarum polycephalum.

Les résultats des expériences sont groupés dans les graphiques ci-contre où les plasmodes comparables sont désignés par la même lettre, le signe « prime » étant réservé aux cultures sur rouge neutre : on porte en abscisse le temps en jours, et en ordonnée, les divers degrés de prospérité du plasmode : cette dernière appréciation peut paraître toute subjective, puisqu'on ne peut peser les masses plasmodiales en culture et que l'organisme, doué de mouvement, est variable dans sa forme. L'appréciation certaine de la croissance d'un jour à l'autre peut être, en effet, difficile; dans cette appréciation, nous avons pris pour base les caractères enregistrés soigneusement chaque jour : dimensions — réaction à l'aliment — aspect morphologique; aidée de notre expérience acquise sur les plasmodes normaux dont nous avons étudié les comportements si variables, nous nous sommes efforcée d'appliquer la plus grande objectivité possible.

Les cultures Ae et Ae' donnent l'allure générale du phénomène : Ae meurt après 16 jours de culture sur bleu de crésyle, et le plasmode Ae' n'est pas intoxiqué; il se développe à tel point, qu'il nécessite un dédoublement et termine son cycle de vie normal par la sporulation.

Les cultures Cg, Di, Js, montrent de même que les plasmodes sur rouge neutre survivent aux cultures sur bleu de crésyle et finissent toujours par sporuler.

Le couple Bf, Bf' est encore plus probant.

Certains cas sont peu démonstratifs du fait que les plasmodes ont sporulé très peu de temps après leur repiquage sur milieux colorés : l'action toxique, si elle existe, n'a pu se manifester; telles les cultures Ir et Ir' qui fructifient dès le premier jour de l'expérience.

A priori, Ek et Ek' semblent aberrants; mais, en réalité, le plasmode sur bleu est mort, tandis que la culture sur rouge aboutit au phénomène normal de sporulation.

Les plasmodes en Gm paraissent attester de façon assez claire que le plasmode sur bleu, après s'être d'abord comporté comme le plasmode sur rouge, manifeste, vers le 20^e jour, une intoxication, rapidement suivie de mort; au contraire, le plasmode correspondant sur rouge a survécu pendant plus d'un mois encore, avec une croissance très nette manifestée, malgré les cas de sporulation, par plusieurs dédoublements.

Le couple en Hn exprime nettement la même tendance que les précédents : les plasmodes bleus moururent après 17 jours de culture, les rouges sporulèrent pour la plupart; une culture survécut à l'état végétatif, mais elle disparut accidentellement le 42^e jour de culture.

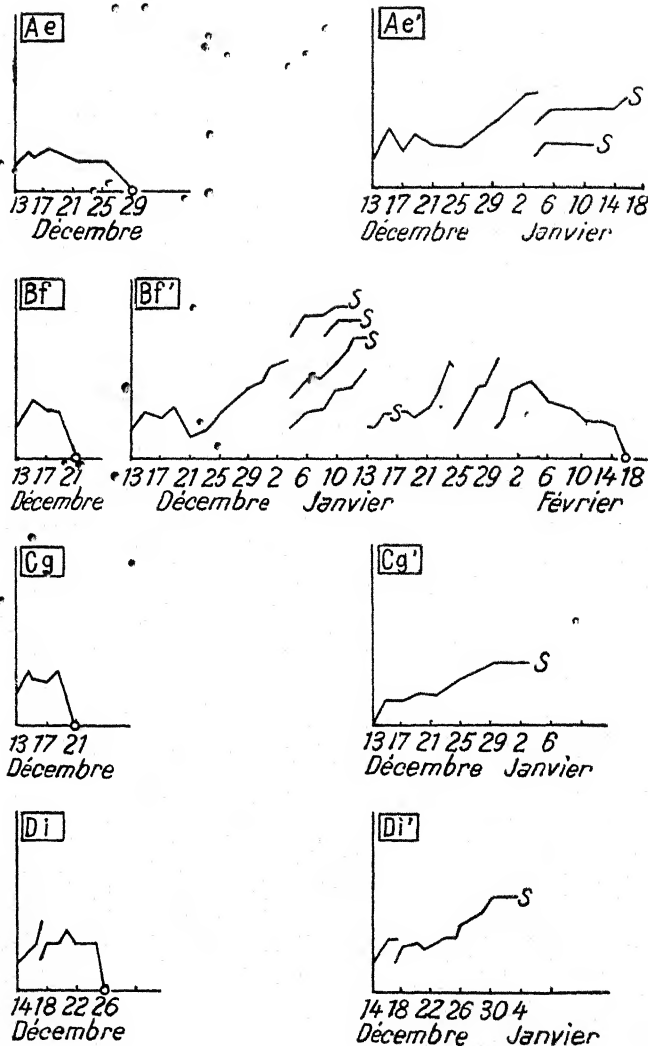


FIG. 13. — Représentation graphique des expériences de la 1^{re} série. On porte en ordonnée, l'état du plasmode, et en abscisse, le temps. Pour limiter l'extension des courbes on prend comme unité de temps, une période de quatre jours.

Les plasmodes homologues sont désignés par la même lettre, les cultures sur rouge neutre étant affectées du signe '. La mort des plasmodes en expériences est figurée par \circ . La sporulation est indiquée par S. Les repiquages sont signalés par des discontinuités dans les courbes.

Globalement, nous avons donc constaté que les cas de sporulation sur rouge sont fréquents : 23 cas malgré 4 morts accidentelles non imputables aux colorants vitaux. Il est à remarquer que les 8 morts naturelles n'atteignent que des cultures fragmentaires ou surviennent entre 50 et 66 jours de culture, lorsque les plasmodes homologues sur bleu sont morts depuis longtemps.

D'une façon générale, chez les cultures bleues, à l'approche de la mort, le plasmode se resserre et se fragmente en vésicules bleu vert foncé. Les cas de mort naturelle sont la règle : 16 cas affectant géné-

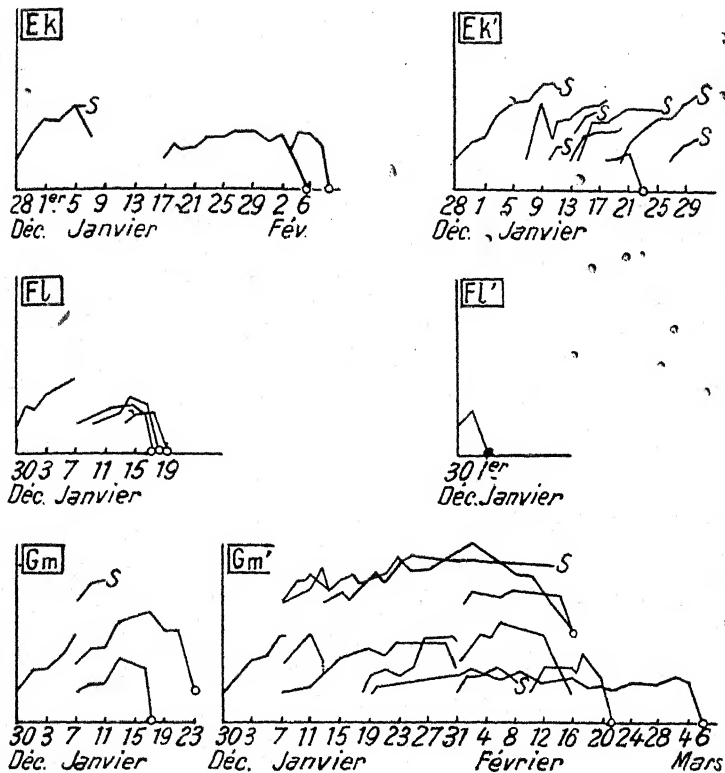


FIGURE 13 bis.

ralement la totalité ou la plus grande partie des cultures dans un délai de 9 à 25 jours à l'exception de Ek. Il ne s'est présenté qu'à 5 cas de sporulation et encore n'était-elle que très partielle (sauf pour Ir).

Le calcul statistique appliqué à ces phénomènes démontre que la valeur médiane (Me) des durées de vie des cultures sur bleu est de 17,5 jours et des cultures sur rouge de 49 jours (ces calculs ne tiennent compte que de la mortalité par colorants, sans faire intervenir aucune culture sporulée, ce qui nous indique que, même dans les cas excep-

tionnels où les cultures rouges meurent, leur durée de vie est bien supérieure à celle des bleues).

La 2^e série d'expériences, où série β , qui utilise des solutions colorées non stérilisées et tamponnées pour un pH légèrement acide fournit des cultures très régulièrement et intensément colorées. Aucune mort

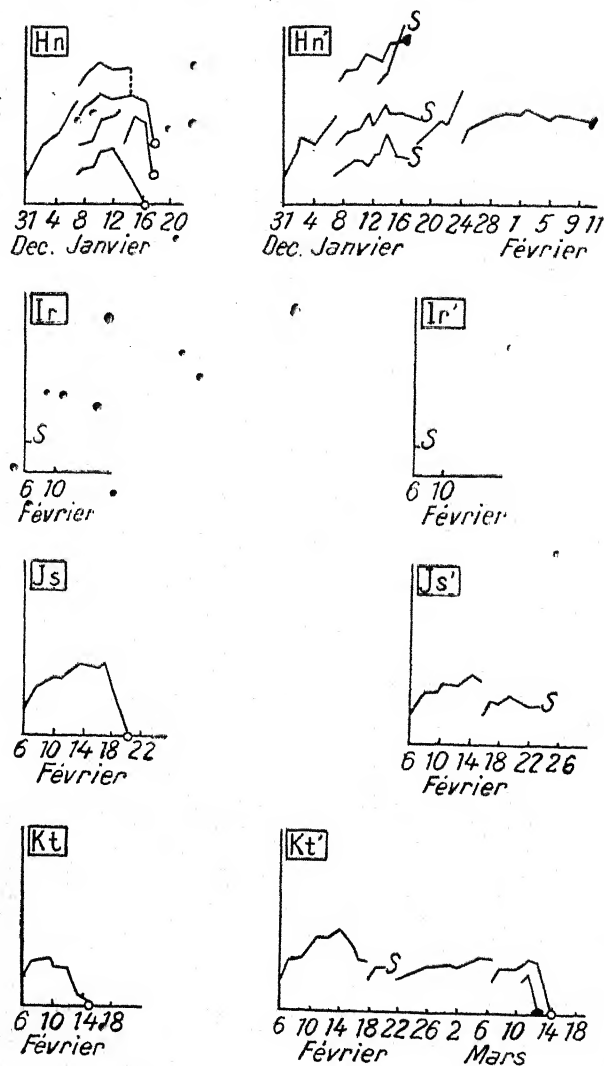


FIGURE 13 ter.

accidentelle ou naturelle ne survient dans les cultures sur rouge : après période végétative variant de 8 à 36 jours, les plasmodes sporulent en donnant des fructifications dont le peridium est noir. Au contraire, les plasmodes bleus meurent ou produisent des sporanges dont l'évo-

lution est anormale : le plasmode sur le point de sporuler se resserre en globules où progressivement se différencient un pied, et une tête bleue qui ne mûrit pas. Certains plasmodes n'atteignent même pas ce

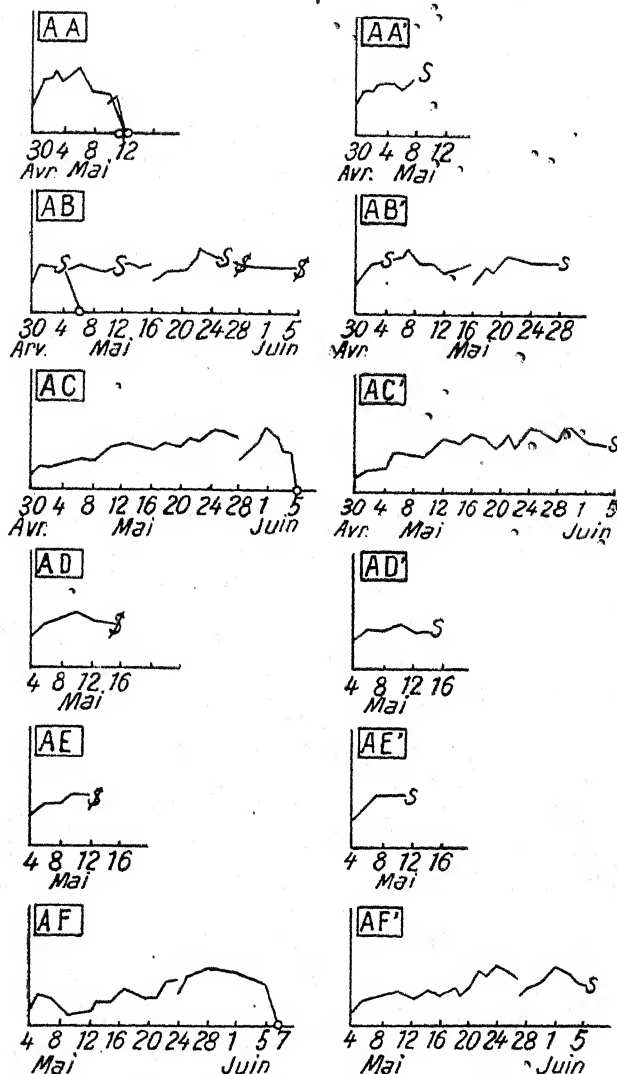


FIG. 14. — Représentation graphique des expériences de la 2^e série. Mêmes remarques que pour la figure précédente ; les \$ indiquent les sporulations anormales.

stade et restent à l'état de globules sessiles; quelques rares sporanges parviennent à maturité mais leur proportion est très faible par rapport aux autres. Enfin, il en est qui se vésiculisent : le protoplasme commence

à se boursoufler — étape tout à fait primitive de la sporulation — Cette mort, qui rappelle de très près la « vésiculation » que nous avons si fréquemment remarquée sur les plasmodes bleus de la première série, nous permet de penser que c'est au moment de la sporulation que le plasmode meurt. Nous avons souvent constaté la fragilité de *Physarum polycephalum* lors de la fructification : ainsi une faible élévation de température, habituellement bien supportée, suffit dans ce cas à le tuer.

A l'appui de notre hypothèse, citons les plasmodes AA, Js, Kt, AC, AF, Hn; qui meurent au cours des expériences, au moment où les cultures homotogues sur rouge sporulent. On pourrait supposer alors qu'à la dose où nous avons employé les colorants, ils seraient supportés pendant la vie végétative des plasmodes; mais, au moment de la crise de la sporulation, les plasmodes, sur bleu sont beaucoup plus intoxiqués et meurent, tandis que les cultures sur rouge survivent; ce qui témoignerait que l'action du rouge neutre est moins toxique que celle du bleu de crésyle.

En dehors des résultats concernant la toxicité des colorants vitaux, il y a lieu de croire que d'autres renseignements peuvent être dégagés des expériences précédentes.

Dans la série β , les cultures se colorèrent régulièrement et intensément sur les milieux colorés, constitués de papier Chardin humidifié par une solution colorée dont la composition a été donnée précédemment (type A). La texture de ces milieux ne se prête pas aux mesures directes de pH par la méthode électropotentiométrique. Aussi avons-nous, d'une part, mesuré le pH de la solution et éprouvé son effet tampon par les méthodes habituelles; mais ceci ne prouve pas que la résistance du tampon soit suffisante pour compenser l'acidification que le Myxomycète fait subir au milieu. D'autre part, on sait (cf. p. 135) que la même solution incorporée à la gélose permet l'entretien des cultures sans modification notable de pH. Ces deux faits permettent de penser que dans le cas qui nous occupe, les milieux sont restés à un pH fixe (compris entre 4, 8 et 5); or les plasmodes ont été régulièrement et intensément colorés. La coloration vitale des plasmodes de *Physarum polycephalum* s'effectue donc bien en milieu de culture acide.

De plus, il semble que les plasmodes se colorent pendant la croissance. L'appréciation certaine de la croissance nous paraît, au moyen des méthodes utilisées par GUILLIERMOND et GAUTHERET (1938 et 1939), impossible dans le cas de ces grands organismes doués de mouvements que sont les plasmodes de *Physarum polycephalum*. Pourtant, l'examen global de plasmodes issus d'une très petite goutte protoplasmique et qui, finalement, atteignent des dimensions leur permettant de couvrir plusieurs dizaines de cm² sans cesser d'être colorés vivement, soit en rouge, soit en vert, laisse supposer que le

colorant n'est pas excrété de manière massive pendant la croissance. SKUPIENSKI, de son côté, a pu obtenir, par le rouge neutre, la coloration des vacuoles de *Didymium nigripes* pendant la croissance.

La 3^e série d'expériences met en œuvre des milieux gélosés colorés par le brun de Bismark à la dose de 1/6.000; on n'a pas étudié sa toxicité relative puisqu'il n'y a pas eu d'expériences menées parallèlement, sur un autre colorant vital. Il s'agissait surtout de rechercher

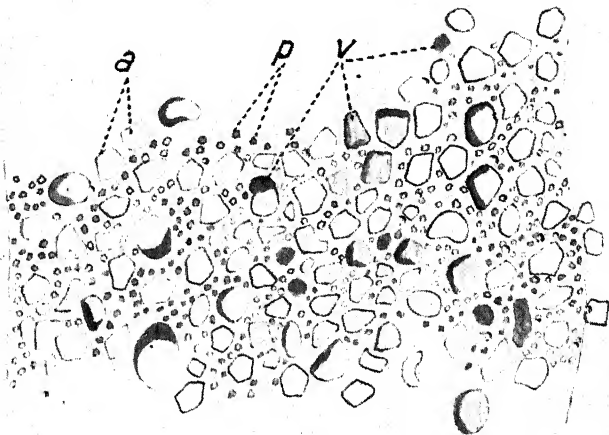


FIG. 15. — Veine d'un plasmode de *Physarum polycephalum* cultivé sur rouge neutre à 1 : 6.000 : 1.000 (\times).

Les grains de pigment et quelques grains d'amidon envacuolés fixent le colorant.

p, conerétions pigmentaires.

a, grains d'amidon.

v, vacuoles.

les enclaves cytoplasmiques sur lesquelles se fixe le colorant et, secondairement, sa toxicité. Les notes consignées chaque jour sur l'état du plasmode semblent indiquer qu'il supporte le colorant à la dose fournie, mais aucune sporulation n'est survenue.

LES VACUOLES

La coloration vitale permet l'examen des vacuoles; nous étudierons successivement celles des plasmodes et des spores de *Physarum polycephalum*.

Les vacuoles des plasmodes. — Les colorants vitaux utilisés dans les cultures précédentes ne se fixent pas sur le cytoplasme des plas-

modos de *Physarum polycephalum*: pourtant, l'examen rapide des organismes en culture fait percevoir une teinte diffuse du cytoplasme; mais celle-ci est due aux concrétions pigmentaires, très nombreuses dans les plasmodes et qui prennent vivement chacun des colorants: le rouge neutre les teinte en rouge, le bleu de crésyle en vert jaunâtre, le brun de Bismark en jaune chamois.

Les granulations pigmentaires prennent les colorants vitaux plus régulièrement que les vacuoles des plasmodes: en effet dans les expériences de la 1^{re} et de la 3^e série, certaines cultures étaient parfois



FIG. 16. — Détails des vacuoles du plasmode de *Physarum polycephalum*. A. Coloration vitale par le bleu de crésyle ($\times 2.000$).

peu colorées et l'examen microscopique ne révélait aucune vacuole colorée; par contre, les granulations pigmentaires se teintaient intensément, prouvant ainsi que le colorant avait pénétré.

Les autres inclusions qui fixent les colorants vitaux sont des corpuscules entraînés par les courants cytoplasmiques et colorés en rouge orangé ou rouge brique pour les plasmodes cultivés sur rouge neutre, en bleu pâle, bleu vert ou bleu porcelaine dans le cas du bleu de crésyle, en jaune rougeâtre dans le cas du brun de Bismark (fig. 16). Nous avons la certitude que chaque corpuscule est une vacuole entourant plus ou moins complètement un grain d'amidon. En effet, on retrouve dans ces corpuscules les grains d'amidon caractéristiques de l'Avoine, sphériques, globuleux ou polyédriques, leur taille variant de plusieurs μ à une fraction de μ .

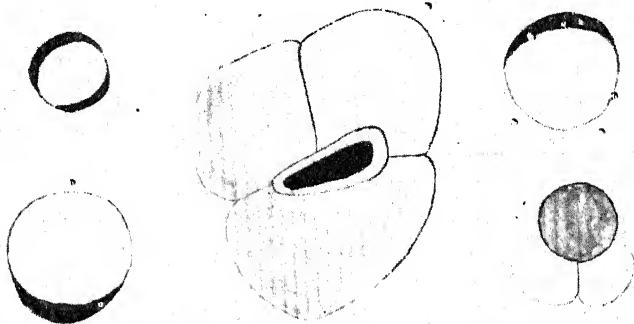
Il s'agit bien, dans tous ces cas, de vacuoles formées autour d'un corps étranger ingéré inattaqué ou partiellement dissous à l'intérieur de l'organisme, analogues aux vacuoles obtenues expérimentalement par PFEFFER sur *Chondrioderma difforme* et par MANGENOT sur *Fuligo*

seplica. Au moment de l'excrétion, grain, d'amidon et vacuole sont expulsés simultanément.

Tous les corpuscules colorés des plasmodes, autres que les grains, de pigment, sont ainsi des vacuoles d'origine alimentaire, néoformées autour de grains d'amidon, et aussi d'amas bactériens. Nous n'avons jamais rencontré de vacuoles pulsatiles ou autres vacuoles ne contenant pas d'ingestum.

Cette conclusion, que vient encore appuyer le fait, constaté par nous, de l'absence de métachromatine dans les plasmodes de *Physarum polycephalum*, résulte d'examen poursuivis sur des cultures alimentées par des fragments de « Quaker Oats » secs et dans les conditions décrites plus haut.

Dans le cas de *Physarum* cultivés sur milieu de Howard, les grains d'amidon, incorporés au substratum gélosé, ne peuvent être ingérés



B. Coloration vitale par le rouge neutre ($\times 3.000$).

et les plasmodes présentent exclusivement des vacuoles digestives contenant des Bactéries.

Suivant l'un ou l'autre des deux procédés de culture, l'alimentation du plasmode est donc un peu différente : dans le premier cas, l'organisme ingère de l'amidon et des Bactéries, et dans le second, exclusivement des Bactéries. Est-ce à dire que *Physarum polycephalum* assimile, dans le premier cas, l'amidon qu'il ingère. Nous ne le croyons pas. En effet, on ne remarque pas de figures de corrosion caractéristiques et le plasmode excrète en quantités massives, ainsi que l'attestent les fines veines blanches laissées fréquemment par les plasmodes sur leur substratum. Ceci concerne l'amidon cru, mais on sait que les organismes inférieurs n'assimilent généralement que l'amidon cuit. Aussi avons-nous essayé d'alimenter les plasmodes de *Physarum polycephalum* au Quaker cuit. Dans ce cas les grains d'ami-

don se gonflent et se désagrègent; mais nous n'avons pas observé les colorations rougeâtres par le réactif iodo-ioduré qui pourraient laisser supposer un début d'hydrolyse. Ceci nous porte à penser que l'amidon n'est pas utilisé par le plasmodé de *Physarum polycephalum*; par contre, il existe peut-être, autour de chaque grain d'amidon, une substance assimilable (protides et lipides du plaste élaborateur), en trop petite quantité pour être mise en évidence, mais responsable de la formation d'une petite vacuole.

Coloration vitale des spores. — Nous avons observé, d'une part, des spores résultant d'organismes cultivés sur milieux colorés, au moment de leur formation et, d'autre part, des spores mûres colorées

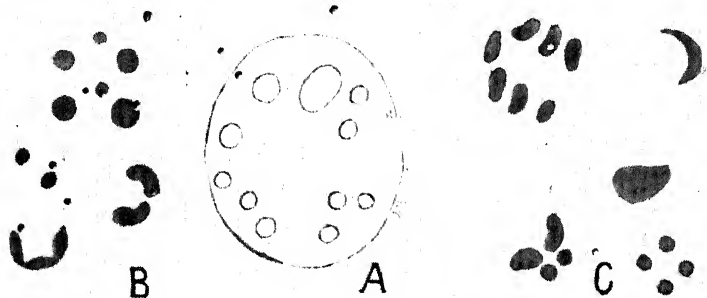


FIG. 17. — Spores de *Physarum polycephalum* colorées vitalem.
 A. Vue d'ensemble d'une spore avec ses vacuoles. ($\times 2.500$ environ).
 B. Détails de vacuoles colorées par le rouge neutre. ($\times 7.500$).
 C. Détails de vacuoles colorées par le bleu de crésyle. ($\times 7.500$).

vitalem par immersion dans une solution de rouge neutre ou de bleu de crésyle. Dans les deux cas, nous avons constaté la présence de vacuoles sphériques ou plus ou moins allongées, d'une taille de 1 ou 2 μ environ qui prennent fortement les colorants vitaux et sont de 2 sortes : les unes, homogènes, d'un rouge clair ou d'un bleu pâle, suivant le colorant employé; d'autres, hétérogènes, dont la matière fondamentale prend à peu près la même teinte que les précédentes et tient en suspension des précipités plus foncés (rouge carmin ou bleu de Sèvres). Dans quelques rares cas, l'inclusion sphérique reste incolore à l'exception d'une mince couche collée contre sa paroi, qui prend vivement le colorant (fig. 17).

Au sujet de ces vacuoles hétérogènes, nous pensons qu'elles représentent (*les réactions de la métachromatine sont négatives à leur niveau*) des restes de vacuoles digestives; les vacuoles homogènes seraient des vacuoles dont le contenu alimentaire a été entièrement consommé.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

L'entretien et la multiplication des plasmodes. Le problème des cultures pures. — Nous avons préconisé, pour le plasmode de *Physarum polycephalum*, un nouveau procédé d'entretien qui, comme, nous l'avons déjà signalé, ne constitue pas une technique de culture pure. Nos efforts, dans le but de les obtenir en utilisant le substrat de HOWARD, restèrent vains : les plasmodes *Physarum polycephalum* sont grands et leur surface est très visqueuse ; nous n'avons pu les débarrasser de microorganismes.

A notre connaissance, on n'a jamais réalisé, jusqu'à ce jour, de cultures aseptiques de Myxomycètes : généralement, les milieux sur lesquels on élève les plasmodes sont stérilisés au préalable ; mais, au cours du développement ils s'infectent, ainsi que l'attestent les textes suivants. En 1878, C. O. MILLER écrivait : « Dans les cultures faites au moyen de foin septique dans des récipients sans précautions aseptiques ou dans des flacons avec précautions aseptiques, on trouve des Bactéries, des Champignons, Monadines, Infusoires et plasmodes se développant avec une régularité uniforme ». De son côté, JAHN, à propos des cultures de plasmodes de Myxomycètes, cite en exemples *Didymium difforme*, *squamulosus*, *nigripes* et *Physarum nutans*, *didermoides*, *compressus*, *leucopus* et ajoute : « Une culture stérile est ici aussi impossible ». Quant à HOWARD, 1931, il ne fait aucune allusion aux cultures pures, Enfin SKUPIENSKI, en 1933, s'exprime ainsi au sujet de *D. nigripes* : « Tous les efforts de plusieurs auteurs et de moi-même, pour libérer cet organisme des Bactéries qui l'accompagnent, n'ont abouti à aucun résultat ».

Faut-il en déduire que jamais on ne pourra obtenir de cultures pures des Myxomycètes ?

Certes pas. PINOY est parvenu, chez les Acrasiées, à obtenir des spores parfaitement aseptiques ; il insiste, il est vrai, sur la difficulté beaucoup plus grande d'obtenir des spores aseptiques de Myxomycètes endosporés ; mais ce résultat peut cependant être atteint et PINOY aurait sans doute réalisé la culture aseptique des Myxomycètes s'il n'avait rencontré l'obstacle suivant : les plasmodes ne peuvent, comme le font les Bactéries ou les Champignons, utiliser des aliments présentés sous forme dissoute ; il faut nécessairement leur offrir un aliment *figuré*, aliment choisi par PINOY sous forme d'une Bactérie en culture pure. Nous avons, aujourd'hui, le droit de nous demander s'il ne serait pas possible de remplacer les cellules bactériennes vivantes par des cellules bactériennes mortes ; ou même d'obtenir le développement complet d'un Myxomycète en présence d'un aliment

synthétique composé d'un excipient pouvant être attaqué et ingéré par le plasmode, excipient contenant les substances plastiques, et catalytiques nécessaires. Notre travail nous incite à prévoir qu'il sera répondu un jour de manière affirmative à ces questions : MANGENOT a, pendant deux ans, multiplié à son gré, et sans interruption, des plasmodes de *Fuligo* alimentés exclusivement de fragments stérilisés de carpophores d'Hyménomycètes, présentés directement, ou sous forme d'une purée en suspension gélosée; les conditions de la culture sur disque ligneux n'excluent certes pas les Bactéries; mais la masse de celles-ci est insignifiante par rapport à celle de l'aliment stérilisé et ne paraît pouvoir entrer en ligne de compte que comme source de facteurs oligodynamiques. Les résultats obtenus, par ailleurs, sur la culture pure de Protistes (Flagellés, Infusoires), en présence des vitamines indispensables, nous conduisent à penser que les Myxomètes n'ont pas un comportement différent et seront un jour cultivés à l'état pur.

La toxicité des colorants vitaux. — L'absence de cultures pures nuit à l'exactitude des expériences sur les Myxomycètes, en particulier, à propos de la toxicité relative des colorants vitaux. Pourtant, le rouge neutre semble plus toxique que le bleu de crésyle, pour *Fuligo septica* ainsi que MANGENOT l'a établi. Au sujet de *Physarum polycephalum*, l'ordre de toxicité paraît inverse; le phénomène évolue toujours dans le même sens : le rouge neutre est bien admis par les plasmodes, et le bleu de crésyle, plus toxique, les tue vraisemblablement à l'époque de la sporulation où le Myxomycète est plus fragile. Quant au brun de Bismark, sa toxicité serait faible, voisine de celle du rouge neutre pour *Physarum polycephalum*.

Ainsi cette espèce se comporterait comme les Champignons et Phanérogames, étudiés par GUILLIERMOND puis GUILLIERMOND et GAUTHERET, pour lesquels l'ordre de toxicité des colorants vitaux s'est révélé constant : le rouge neutre et le brun de Bismark étant moins toxiques que le bleu de crésyle. En outre, dans le but de préciser les conditions de la coloration vitale, GUILLIERMOND et OBATON cultivèrent des Végétaux sur des milieux de pH échelonnés et prouvèrent que « la coloration vitale est bien sous la dépendance du pH » et ne peut s'opérer qu'à un pH voisin de la neutralité et plutôt alcalin, sauf dans le cas des racines de Blé dont les vacuoles contiennent des substances phénolique et, par suite, sont acides. Donc une vacuole se colore à un pH d'autant plus bas qu'elle est elle-même plus acide et contient des substances phénoliques ou tanniques. Il faudrait donc admettre que *Physarum polycephalum*, qui se colore fortement à un pH de 5, possède, ainsi que les racines de Blé, des vacuoles acides (la teinte rouge cerise que leur confère généralement le rouge neutre est en faveur de

cette hypothèse). De plus, le pigment de *Phasrum polycephalum*, dont la composition chimique n'est pas connue, renferme peut-être des fonctions phénoliques qui seraient responsables de la coloration des granulations pigmentaires dans diverses conditions de pH.

Enfin, GUILLIERMOND et GAUTHÉRET ont établi que « si le pH a le rôle essentiel, il n'explique pas tout puisqu'on peut empêcher l'acidification sans obtenir la coloration vitale ». En effet, la majorité des Champignons (Saprolegniacées mises à part) ne se colorent pas dans des conditions de pH favorables, parce qu'elles excrètent les bleus de Nil ou de crésyle et le rouge neutre au moment de la croissance. « Au contraire, les cellules des racines de Blé et de Lupin se comportent très différemment : elles accumulent dans leurs vacuoles le rouge neutre ainsi que les bleus de Nil et de crésyle pendant toute leur croissance et les y conservent sans les excréter, ni les réduire, quel que soit le milieu où on les cultive ». De ce point de vue, il y aurait une nouvelle analogie avec ce que nous avons observé sur *Physarum polycephalum* dont la coloration, sous l'action du rouge neutre et du bleu de crésyle, subsiste au cours de la croissance, coloration due ici en partie aux vacuoles et surtout aux grains de pigment.

Le noyau et la mitose. — De nos observations cytologiques sur les plasmodes de *Physarum polycephalum*, il ressort que leurs noyaux sont beaucoup plus gros que ceux des Champignons, et que la division nucléaire est bien une Caryocinèse typique, comme l'établissent LISTER, JAHN et d'autres auteurs sur plusieurs Myxomycètes et HOWARD sur *Physarum polycephalum*. Ce dernier savant a décrit, au sujet de la mitose qui précède la formation des spores, la présence d'une très délicate membrane autour de quelques noyaux en métaphase et l'existence de centrosomes, comme cela s'observe chez les Champignons.

Pour notre part, nous avons constaté la disparition de la membrane nucléaire dès la prophase et l'existence de centrosomes nous paraît probable; ces deux caractères réunis éloignent la mitose de *Physarum* de celle des Végétaux supérieurs, et même de celle des Cryptogames; ils la rapprochent, au contraire de celle des Animaux. Enfin, les divisions nucléaires, étudiées par nous, qui coïncident avec la sporulation, n'offrent aucun caractère de méiose et nous pensons qu'il s'agit ici d'une mitose somatique sans toutefois généraliser ce résultat au cycle de développement de *Physarum polycephalum* : la sporulation de cette espèce, dans les conditions où nous l'avons cultivée, est, en effet, souvent anormale, avec production de spores multinucléées et géantes.

Chondriome et autres inclusions du cytoplasme. — Le chondriome de *Physarum polycephalum* étudié dans les plasmodes végétatifs ou prêts à sporuler et dans les spores ne présente aucune forme filamen-

teuse, partout les mitochondries dominent. Le chondriome paraît dépourvu de rôle élaborateur.

Dans nos conditions de culture, les granulations calcaires sont assez rares chez *Physarum polycephalum*; par contre le glycogène y abonde sous forme de plages répandues dans le cytoplasme du plasmode mais il est exclu des spores.

Les grains de pigment, nombreux et amorphes, sont d'un jaune qui va du verdâtre à l'orangé; ces inclusions paraplasmiqes, qui retiennent fortement les colorants vitaux paraissent présenter, malgré leur insolubilité, une certaine analogie avec les vacuoles, ainsi que le suggéra MANGENOT à propos de *Fuligo septica*. Quant aux vacuoles ou « inclusions hydrophiles » observées par nous sur *Physarum polycephalum*, elles semblent toutes en rapport avec des substances étrangères ingérées : Bactéries ou grains d'amidon. Dans les conditions de culture, que nous préconisons, les vacuoles offrent des aspects variables en rapport avec ceux des grains d'amidon qu'elles entourent complètement ou en partie, mais on ne rencontre pas l'extrême diversité révélée par MANGENOT chez *Fuligo septica* dont le régime alimentaire est beaucoup plus souple.

Nous n'avons rencontré aucune vacuole pulsatile telle que JAHN et SKUPIENSKI en signalèrent respectivement sur *Badhamia utricularis* et *Didymium nigripes* et nous pensons, ainsi que MANGENOT sur *Fuligo septica*, que les seules vacuoles des plasmodes de *Physarum polycephalum* sont d'origine alimentaire. Ces deux faits sont encore renforcés par l'absence de métachromatine, constatée par nous, à la fois dans les plasmodes de *Fuligo septica* et de *Physarum polycephalum*. Dans la théorie de DANGEARD, les vacuoles ou « vacuome » représentent un système très important parmi les constituants cellulaires, caractérisé par sa continuité, son affinité pour les colorants vitaux, et la présence de métachromatine. Il est actuellement certain que les vacuoles ne sont caractérisées ni par leur continuité ni par leur constitution chimique puisqu'il existe des précipités vacuolaires de natures très diverses et dépourvus de métachromatine, mais on sait d'autre part que cette dernière substance est largement répandue dans le groupe des Protistes et des Champignons dont les Myxomycètes sont membres. Par conséquent, l'absence de métachromatine chez ceux-ci est un fait important en faveur de l'absence de vacuoles autres que digestives dans les plasmodes des deux Myxomycètes considérés. Enfin nous avons observé les vacuoles des spores, vacuoles à précipités, très nettes mais également dépourvues de métachromatine; il ne peut s'agir de vacuoles digestives puisque la spore est à l'état de vie ralentie et enfermée dans une enveloppe squelettique; mais ce sont, ou des vacuoles formées *de novo* ou des restes d'anciennes vacuoles digestives.

L'ensemble des caractères cytologiques étudiés sur *Physarum polycephalum* et comparés avec ceux de *Fuligo septica* — surtout en ce qui touche le noyau et les vacuoles — marque une distinction profonde entre les Champignons et les Myxomycètes, dont les plasmodes doués de mouvement et dépourvus de membrane squelettique se rapprochent des Animaux inférieurs et en particulier des Amibes.

CONCLUSIONS

1° Les deux plasmodes étudiés peuvent être cultivés pendant un temps très prolongé sur un milieu inerte, à condition qu'on leur fournisse un aliment plastique, non vivant, convenable : Quaker Oats pour *Physarum polycephalum*; carpophores d'Hyménomycètes pour *Fuligo* α (1).

L'hypothèse est émise que les plasmodes des Myxogastres pourraient être alimentés dans des conditions entièrement aseptiques pourvu qu'il leur soit fourni un aliment *figuré* comprenant tous les éléments plastiques et catalytiques nécessaires.

2° Le plasmode de *Physarum polycephalum* présente des variations notables dans sa forme et des virages dans sa teinte jaune, en rapport avec sa nutrition ou son état physiologique.

Le plasmode de *Fuligo* α , nourri de Levure fraîche, est beaucoup moins varié morphologiquement et se maintient presque toujours incolore.

3° Par les dimensions relativement considérables de leurs noyaux, par les caractères de leur mitose (fuseau intracytoplasmique) les plasmodes de *Physarum polycephalum* ne rappellent en rien les Champignons.

Au moment de la formation des spores, les caryocinèses, toutes somatiques, se déroulent en grand nombre avec un remarquable synchronisme.

4° Dans le chondriome de *Physarum polycephalum*, présent dans le plasmode et aussi dans les spores, les formes granuleuses dominent.

5° Le glycogène est présent dans le plasmode de *Physarum polycephalum* et absent dans les spores. Dans les conditions où nous le cultivons, *Fuligo* α en paraît dépourvu.

(1) Il est commode de cultiver *Fuligo* α en l'alimentant de Levure de boulangerie fraîche, mais cet aliment n'est nullement indispensable, il entraîne même très rapidement une dépigmentation artificielle des plasmodes, et les carpophores, stérilisés d'Hyménomycètes convenablement choisis ont, pour ces plasmodes, une valeur nutritive au moins égale.

6° Les concrétions pigmentaires des deux plasmodes sont distinctes des granules calcaires, elles sont amorphes chez *Physarum polycephalum*.

7° Les plasmodes et les spores de *Physarum polycephalum* ainsi que les plasmodes de *Fuligo* α sont dépourvus de métachromatine.

8° Les vacuoles des plasmodes et des spores de *Physarum polycephalum* semblent toutes d'origine exogène, avec contenu alimentaire parfois très remanié.

9° A la concentration de 1/6.000, le brun de Bismarck et le rouge neutre sont très peu toxiques pour les plasmodes de *Physarum polycephalum* et beaucoup moins que le bleu de crésyle qui, à la même dose, tue les plasmodes, vraisemblablement au moment de la sporulation.

BIBLIOGRAPHIE

- BRANDZA. — 1928. Observations sur quelques sclérotés de Myxomycètes calcarés. *Le Botaniste*, 20, 117-146.
- BRUNAUD. — 1891. Miscellanées mycologiques série 2. *Actes Soc. Linn. de Bordeaux*, 44, 211-273.
- CAMP (W.-G.). — 1936. A method of cultivating Myxomycete plasmodia. *Bull. Torrey Bot. Club*, 43, 205-210.
- Id. — 1937 The fruiting of *Physarum polycephalum* in relation to nutrition. *Amer. Journ. Bot.*, 24, 300-303.
- CAVERS (F.). — The interrelationships of the Protoista and the primitive Fungi. *New Phytol.*, 4, 94-104, 223-227, 275-280, 302-304.
- CAYLEY, DOROTHY (M.). — 1929. Some observations on Mycetozoa Didymium. *Trans. British Mycol. Soc.*, 14, 227-348.
- CELAKOVSKY (Ladislav). — 1892. Ueber die Aufnahme lebender und toter verdaulicher Körper in die Plasmodien der Myxomyceten. *Flora*, 76, (Ergänzungsband) 182-245.
- CIENKOWSKI (L.). — 1863. Zur Entwicklungsgeschichte der Myxomyceten. *Jahrb. Wiss. Bot.*, 3, 325-337.
- Id. — 1863. Das Plasmodium. *Jahrb. wiss. Bot.*, 3, 410-441.
- CLAUTRIAU (G.). — 1899. Les réserves hydrocarbonées des Thallophytes. *Travaux Laboratoire de Wimereux*, 7.
- CONSTANTINEANU (J. C.). — 1906. Über die Entwicklungsbedingungen der Myxomyceten. *Ann. Mycol.*, 4, 495-540.
- COWDRY (N.-H.). — 1918. The cytology of Myxomycetes with special reference to mitochondria. *Biol. Bull.*, 35, 71-91.
- CURRIE (M.). — 1919. A critical study of the slime molds of Ontario. *Trans. Roy. Canadian Inst.*, 12, 247-308.
- DANGEARD (P. A.). — 1931. Mémoire sur la terminologie des éléments cellulaires et son application à l'étude des Champignons. *Le Botaniste*, 22, 325-493.
- DE BARY (A.). — 1860. Die Mycetozoen. *Zeitschr. Wiss. Zool.*, 10, 88-175.
- Id. — 1864. Die Mycetozoen. *Zweite Auflage* 132 p. *Engelmann, Leipzig*.
- Id. — 1884. Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bakterien 558 p. *Engelmann, Leipzig*.
- ELLIOT (W.-T.) et ELLIOT (Jessie, S.). — 1920. The sequence of fungi and Mycetozoa. *Journ. Bot.*, 58, 273-274.
- ENTCH. — 1899. Notes sur les Myxomycètes. *Travaux Laboratoire de Wimereux*, 7.
- ERRERA. — 1882. L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène. *Thèse d'Agrégation, Bruxelles* 1882.

- ERRERA. — 1882. Le glycogène chez les Mucorinées. *Bull. Ac. Roy. de Belg.*, 3^e série, 4^e.
- ID. — 1884. Le glycogène chez les Basidiomycètes. *Mémoires Acad. Roy. Belg.*, 37.
- GILBERT (F.-A.). — 1927. On the occurrence of biflagellate swarm-cells in certain Myxomycetes. *Mycologia*, 19, 277-283.
- ID. — 1928. Feeding habits of the swarm-cells of the Myxomycete *Dictydioethalium plumbeum*. *Am. J. Bot.*, 15, 123-132.
- ID. — 1928. Observations on the feeding habits of swarm-cells of Myxomycetes. *Am. J. Bot.*, 15, 473-485. Pl. 30 et 31.
- ID. — 1929. Factors influencing germination of myxomycetous spores. *Am. J. Bot.*, 16, 280-286.
- ID. — 1929. Spore germination in Myxomycetes : a comparative study by families. *Am. J. Bot.*, 16, 421-432.
- GILBERT (H.-C.). — 1935. Critical events in the life history of Ceratiomyxa. *Am. J. Bot.*, 22.
- GRAY (W.-D.). — 1936. Notes on plasmodial behaviour of *Stemonitis fusca*. *Proc. Indiana Acad. Sci.*, 45, 75-76.
- ID. — 1937. Observations on the methods of stipe formation in *Stemonitis* and *Comitricha*. *Proc. Indiana Acad. Sci.*, 46, 81-85.
- ID. — 1938. Effet de la lumière sur la fructification des Myxomycètes. *Am. J. Bot.*, 25.
- GUILLIERMOND (A.). — 1927. Sur l'action du rouge neutre sur les cellules végétales et sur la coloration vitale du vacuome. *Bull. Hist. appl.*, 4.
- ID. — 1929. Nouvelles recherches sur coloration vitale par le rouge neutre dans les cellules végétales. *C. R. Ac. Sc.*, 188, 813.
- ID. — 1930. Culture d'un Saprolegnia en milieu additionné de colorants vitaux. Valeur de la méthode de coloration vitale. *Bull. Hist. appl.*, 7, 99.
- ID. — 1930. Sur la toxicité des colorants vitaux. *C. R. Soc. Bio.*, 104, 468-472.
- GUILLIERMOND (A.), DUFRÉNOY (J.) et LABROUSTE. — 1930. Germination des graines de Tabac en milieux additionnés de rouge neutre et coloration vitale de leur vacuome pendant la croissance. *C. R. Ac. Sc.*, 190, 1139.
- GUILLIERMOND (A.), OBATON (F.). — 1934. Sur l'action du pH sur la coloration vitale des cellules végétales. *C. R. Soc. Bio.*, 116, 984.
- GUILLIERMOND (A.) et GAUTHERET (R.). — 1937. Sur les conditions dans lesquelles se produit la coloration vitale des vacuoles par le rouge neutre. *C. R. Ac. Sc.*, 204, 1377-1381.
- ID. — 1937. Sur la propriété des cellules végétales d'excréter le rouge neutre après l'avoir accumulé dans leurs vacuoles. *C. R. Ac. Sc.*, 204, 1520-1523.
- ID. — 1938. Observations sur l'action de divers colorants vitaux sur les cellules végétales vivantes. *C. R. Ac. Sc.*, 206, 1517-1520.

- GUILLIERMOND (A.) et GAUTHERET (R.). — 1938. Cultures de végétaux en milieux additionnés de colorants. Degré de toxicité des colorants. *C. R. Ac. Sc.*, **206**, 1601-1604.
- Id. — 1938. Culture de *Saprolognia diclina* en milieux additionnés de colorants. *C. R. Soc. Biol.*, **128**, 493-495.
- Id. — 1938. Action des bleus de Nil et de crésyle sur les Levures : réduction et excretion de ces colorants par les Levures. *C. R. Soc. Biol.*, **206**, 1848-1852.
- Id. — 1938. Sur la fixation par les cellules végétales vivantes des leucobases de certains colorants vicaux. *C. R. Ac. Sc.*, **207**, 417-420.
- Id. — 1939. Action du pH sur la coloration vitale des Levures. *C. R. Ac. Sc.*, **208**, 237-240.
- Id. — 1939. Sur la détermination du rH des cellules de Levures, (*Saccharomyces cerevisiae*). *C. R. Soc. Biol.*, **130**, 1202-1203.
- Id. — 1939. Sur le prétendu pouvoir réducteur propre des chondriosomes vis-à-vis du vert Janus. *C. R. Ac. Sc.*, **208**, 1061-1064.
- GUILLIERMOND, MANGENOT, PLANTEFOL. — 1933. *Traité de Cytologie végétale, Le François, Paris.*
- HARPER (R.-A.). — 1900. Cellular and nuclear division in *Fuligo varians*. *Bot. Gaz.*, **30**, 217-251.
- Id. — 1914. Cleavage in *Didymium melanospermum*. *Am. J. Bot.*, **1**, 127-144.
- HARPER et DODGE (B.-O.). — 1914. The formation of capillitium in certain Myxomycetes. *Annals Bot.*, **28**, 1-18.
- HARSHBERGER (J.-W.). — 1901. Observations upon the feeding plasmodia of *Fuligo septica*. *Bot. Gaz.*, **31**, 198-203.
- HILTON. — 1908. On the cause of reversing currents in the plasmodia of Mycetozoa. *Journ. Quek. Micros. Club, série 2*, **10**, 263.
- HOWARD (F.-L.). — 1931. Life history of *Physatrum polycephalum*. *Sch. Am. J. Bot.*, **18**, 116-133.
- Id. — 1931. Laboratory cultivation of Myxomycete plasmodia. *Am. J. Bot.*, **18**, 624-628.
- Id. — 1932. Nuclear division in plasmodia of *Physarum*. *Annals Bot.*, **46**, 461-477.
- HOWARD (F. L.) et CURRIE (M.). — 1932. Parasitism of myxomycete plasmodia on the sporophores of Hymenomycetes. *Journ. Arnold Arb.*, **13**, 270-284.
- Id. — 1932. Parasitism of myxomycete plasmodia on fungous mycelia. *Journ. Arnold Arb.*, **13**, 438-447.
- JAHN (E.). — Myxomycetenstudien. 1. *Dictydium umbilicum* Schrader. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, **19**, 97-115.
- Id. — 1907. 6. Kernverschmelzungen und Reduktionsteilungen. *Id.*, **25**, 23-26.
- Id. — 1911. 8. Der Sexualakt. *Id.*, **29**, 231-247.
- Id. — 1932. 14. Die organe des Plasmodiums, *Id.*, **50**, 367-399.

- JAHN (E.). — 1933. 15. Somatische und generative Kernteilungen. *Id.*, 377-385.
- Id. — 1936. 16. Die Kernphasen und die Zahl der Chromosomen. *Id.*, 54, 517-528.
- Id. — 1935. Kulturmethoden und Stoffwechseluntersuchungen bei Myxomyceten (Schleimpilzen). *Handb. der biolog. Arbeitsm.*, 12, 905-925.
- LANGERON (M.). — 1934. Précis de Microscopie. Masson, Paris.
- LÉVEILLÉ. — 1843. Mémoire sur le genre *Sclerotium*. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, 20, 218.
- LEWITSKY (G.). — 1924. Über die chondriosomen bei den Myxomyceten. *Zeitsch. f. Bot.*, 16, 65-89.
- LISON (L.). — 1936. Histochimie animale méthodes et problèmes. Gauthier-Villars, Paris.
- LISTER (A.). — 1888. Notes on plasmodium of *Badhamia*. *Ann. of Bot.*, 2, 1-24.
- Id. — 1889. Notes on the ingestion of food material by swarm-cells of Mycetozoa. *Journ. Linn Soc.*, 25, 435-441.
- Id. — 1893. On the division of nuclei in the Mycetozoa. *Journ. Linn Soc. Bot. London*, 29, 529-542.
- Id. — 1906. Presidential Address. *Trans. British., Mycol. Soc.*, 2, 142-149.
- Id. — 1925. A monograph of the Mycetozoa. London 1925, 3^e Edition G. Lister.
- LISTER (G.). — 1916. The life history of Mycetozoa (*Ceratiomyxa*). *Journal Royal Micros. Soc.*, 361-365.
- LISTER (J.-J.). — 1909. Mycetozoa. A treatise on Zoology. E. R. Lankester (London), 1, 37-67.
- MACBRIDE (T.-H.). — 1900. The slime moulds. *Rhodora*, 2, 75-81.
- MACBRIDE et MARTIN (G.-W.). — 1934. The Myxomycetes. New-York.
- MANGENOT (G.). — 1930. Données morphologiques sur la matière vivante. Guillon, Paris.
- Id. — 1932. Action des colorants vitaux sur les plasmodes de *Fuligo septica* Gmel. *C. R. Soc. Bio.*, 110, 907.
- Id. — 1932. Sur le pigment et le calcaire chez *Fuligo septica* Gmel. *C. R. Soc. Bio.*, 111, 936.
- Id. — 1933. Le plasmode d'*Hermitrichia Vesparium* Machr. *C. R. Soc. Bio.*, 112, 236.
- Id. — 1933. Sur les plasmodes de *Fuligo septica* Gmel. *C. R. Soc. Bio.*, 112, 1160.
- Id. — 1933. Nouvelles observations concernant l'action des colorants vitaux sur les plasmodes de *Fuligo septica* Gmel. *C. R. Soc. Bio.*, 112, 1146.
- Id. — 1934. Recherches cytologiques sur les plasmodes de quelques Myxomycètes. *Rev. Cytol. et Cytoph. vég.*, 1, 20-66.

- MILLER (C.-O.). — 1898. The aseptic cultivation of Mycetozoa. *Quart. Journ. Microsc. Sci.*, **41**, 43-71.
- PINOY (E.). — 1902. Nécessité de la présence d'une Bactérie dans le développement de certains Myxomycètes. *Bull. Soc. Mycol. Fr.*, **18**, 3^e fasc.
- Id. — 1903. Nécessité d'une symbiose microbienne pour obtenir la culture des Myxomycetes. *C. R. Ac. Sc.*, **137**, 580-581.
- Id. — 1907. Rôle des Bactéries dans le développement de certains Myxomycètes. *Ann. Inst. Pasteur*, **21**, 686-700.
- Id. — 1915. Nutrition et coloration des Myxomycètes. *C. R. Soc. Bio.*, **78**, 172-174.
- Id. — 1921. Sur la germination des spores, sur la nutrition et la sexualité des Myxomycètes. *C. R. Ac. Sc.*, **173**, 50-51.
- PROWAZEK (S.). — 1904. Kernveränderungen in Myxomyceten plasmodien. *Österr. Bot. Zeitschr.* 278-281.
- SCHINZ (H.). — 1914. Myxogasteres. In Rabenhorst's Kryptogamen. *Flora. Fung.*, **1**, 10.
- SCHUNEMANN (E.). — 1930. Untersuchungen über die Sexualität der Myxomyceten. *Planta Arch. Wiss. Bot.*, **9**, 645-672.
- SEIFRIZ (W.) RUSSEL (M.). — 1936. The fruiting of Myxomycetes. *New Phytol.*, **35**, 472-478.
- SEIFRIZ (W.) ZETZMANN (M.). — 1935. A slime-mould Pigment as indicator of acidity. *Protoplasma*, **23**, 175-179.
- SKUPIENSKI (F.-X.). — 1920. Recherches sur le cycle évolutif de certains Myxomycètes. *Paris*.
- Id. — 1926. Contribution à l'étude des Myxomycètes en Pologne. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, **42**, 142-169.
- Id. — 1926. Sur le cycle évolutif chez *Didymium difforme*. *C. R. Ac. Sci.*, Paris, **182**, 150-152.
- Id. — 1928. *Badania Biocytołice nad Didymium difforme*. 1^{re} partie. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **5**, 255-335.
- Id. — 1929. Sur la coloration vitale de *Didymium nigripes*. Note préliminaire. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **6**, 203-213.
- Id. — 1931. Influence du rouge neutre sur le développement de certains Myxomycètes. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **8**, 133-140.
- Id. — 1934. Sur existence de races physiologiques chez les Myxomycètes. *Annales Protistologie*, **4**, 121-132.
- SMART (R.). — 1937. Influence of external factors on spore germination in Myxomycetes. *Am. J. Bot.*, **24**, 145-159.
- Id. — 1938. Réaction des zoospores des Myxomycètes aux matières nutritives. *Mycologia*, **30**, 260.
- SMITH (E.-C.). — 1929. Some phases of spore germination of Myxomycetes. *Am. J. Bot.*, **16**, 645-650.
- STAHL (E.). — 1884. Zur Biologie der Myxomyceten. *Zeitschr. Bot.*, **42**.

STÖSCH (H.-A. von). — Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Myxomyceten. *Planta*, **23**, 623-656, 1934-35.

STRASBURGER. — Zellbildung et Zelltheilung. 3 Aufl., Jena.

ID. — 1884. Zur Entwicklungsgeschichte der Sporangien von *Trichia fallax*. *Bot. Zeit.*, **42**, 305-316.

VONWILLER (P.). — 1918. Über den Bau des Plasmas der niedersten Tiere.

ID. — 1919. Über den Bau des Plasmas der niedersten Tiere, II

Lythogaja epidendron. *Arch. für Prot.*, **40**, 1-14.

Recherches sur le noyau des Légumineuses

par M^{lle} CÉCILE DELAY

(Mémoire reçu le 23 août 1939).

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION.....	184
HISTORIQUE.....	185
Noyau quiescent en général.....	185
Noyau des Légumineuses.....	190
MATÉRIEL ET TECHNIQUE.....	191
Matériel.....	191
Méthodes de fixation.....	192
Méthodes de coloration.....	192
Discussion des techniques employées.....	193
STRUCTURE NUCLÉAIRE CHEZ QUELQUES ESPÈCES DE LÉGUMI- NEUSES.....	196
Mimosoïdées.....	197
Ingées.....	197
Eumimosées.....	197
Caesalpinoïdées.....	198
Cassiées.....	198
Papilionacées.....	199
Sophorées.....	199
Podalyriées.....	199
Genistées.....	200
Trifoliées.....	204
Lotées.....	206
Galégées.....	206
Hédysarées.....	209
Viciées.....	211
Phaséolées.....	214
CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.....	215
Divers types de structure nucléaire chez les Légumineuses.....	215
Types de structure nucléaire et systématique des Légumineuses.....	216
Noyaux des Légumineuses et divers types nucléaires.....	219
CONCLUSIONS.....	223
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	224
EXPLICATION DES PLANCHES.....	229

INTRODUCTION

Depuis plus de soixante années le noyau cellulaire a été l'objet de nombreuses études, mais, cependant, on ne peut considérer sa structure comme connue. On est, toutefois, certain de l'existence de divers types de structures nucléaires : noyaux à réticulum, noyaux à prochromosomes ou euchromocentres. On sait aussi qu'il existe des structures ne répondant pas exactement à ces types et qui sont intermédiaires entre eux.

Dans l'ensemble, la structure du noyau quiescent est très mal connue. On peut trouver une des raisons de ces incertitudes dans le fait que la méthode de Feulgen-Rossenbeck, encore relativement récente (1924), qui est la seule permettant de distinguer spécifiquement la chromatine, n'est pas encore employée d'une façon extensive, beaucoup de caryologistes étant restés fidèles aux colorations à l'hématoxyline. D'autre part, l'étude de la structure du noyau quiescent a été négligée par les généticiens et les systématiciens cytologistes, qui se sont uniquement consacrés à l'observation des chromosomes.

Cependant, rien ne prouve que l'étude du noyau quiescent, surtout précisée par la technique de Feulgen, ne révèle pas des diversités structurales très intéressantes pour les cytologistes et aussi pour les systématiciens. Ainsi, chez les Monocotylédones (Liliacées, Graminées, etc...) les noyaux réticulés prédominent probablement. Il n'en est pas de même chez les Dicotylédones où on connaît beaucoup d'espèces présentant des noyaux à prochromosomes, (Cucurbitacées — sauf Cyclanthérées — EICHHORN et FRANQUET); Crucifères; Euphorbiacées, *Ricinus*, etc., etc.).

Chez les Légumineuses, qui forment une grande famille, très diversifiée, de 12.000 espèces, on connaît des types à noyaux réticulés (*Vicia*, *Pisum*) et à prochromosomes (*Lupinus*, *Phaseolus*).

Nous avons pensé que cette grande famille serait favorable à une enquête sur la répartition des espèces à noyaux réticulés ou euchromocentriques et sur l'existence éventuelle de types intermédiaires. Nous avons donc poursuivi des recherches sur la structure nucléaire chez un ou plusieurs représentants de chacune des sous familles ou sections de Légumineuses.

Ce sujet d'étude nous a été confié par M. MANGENOT, professeur à la Faculté des Sciences, quand il a bien voulu nous accueillir parmi ses élèves. Nous tenons à lui exprimer notre respectueuse gratitude.

Nous adressons à M. le Professeur GUILLIERMOND, qui a bien voulu accepter la présidence de notre jury, nos respectueux remerciements. Enfin, nous sommes heureuse de témoigner notre reconnaissance à M^{lle} FOURCROY, Assistante à la Sorbonne, qui nous a orienté vers ces études, à M^{lle} GERTRUDE, toujours si bienveillante envers nous, à M^{lle} CARPENTIER et à tous nos camarades de laboratoire.

PLAN DU TRAVAIL. — Après un exposé historique et l'indication du matériel utilisé et les méthodes suivies, nous décrirons les divers types nucléaires observés. Enfin, dans les considérations générales nous verrons la diversité et l'enchaînement de ces types et nous envisagerons l'intérêt possible de ces observations pour la systématique et pour la cytologie.

HISTORIQUE

Nous rappellerons d'abord les principaux travaux qui ont permis d'arriver à la conception actuelle de la structure du noyau quiescent, puis nous examinerons ce qu'on sait de cette structure chez les Légumineuses.

LE NOYAU QUIESCENT

Les travaux anciens.

Dès 1865, FROMMANN, étudiant les noyaux des cellules de la moëlle du Bœuf, y décrivait un réseau dont, à son avis, les nucléoles représentent les points d'entrecroisement. FLEMMING, en 1876, confirmait les observations de FROMMANN, en constatant, dans les noyaux des cellules de Salamandre, l'existence d'un réticulum nettement distinct de la matière fondamentale, ou caryolympe, et du nucléole. Il étudia l'effet de divers fixateurs (alcool, acide picrique, acide chromique) et remarqua que, dans le noyau, seuls le réseau et le nucléole retiennent les substances colorantes : hématoxyline et couleurs d'aniline. En 1880, il publie un nouveau mémoire dans lequel il distingue plusieurs éléments constitutifs du noyau : une *charpente nucléaire* ou *réticulum* qui présente des points nœuds ou *pseudo nucléoles*, un suc nucléaire, des nucléoles et une membrane nucléaire. Il donne le nom de *chromatine* à la substance colorable du noyau sans toutefois définir sa constitution physique ou chimique.

Bientôt, à la suite des travaux de nombreux auteurs (SCHMITZ, 1880; BARANETZKY, 1880; GUIGNARD, 1884), on admit l'existence d'une structure réticulée dans la plupart des noyaux. Cependant cette interprétation avait été, dès le début, combattue par de nombreux

auteurs (AUERBACH, 1875; DELLA VALLE, 1907), soutenant, que les détails structuraux observés étaient artificiels et dus aux fixateurs employés.

En 1904, ROSENBERG, décrivait chez *Capsella bursa pastoris* un type nucléaire dépourvu de réseau chromatique, mais porteur de granulations fortement colorables, situées contre la membrane nucléaire, et admit qu'elles étaient en même nombre que les chromosomes. OVERTON (1906) donna à ces granulations le nom de prochromosomes. On leur a aussi appliqué le nom de chromocentres (BACCARINI, 1908) qui est aussi employé pour désigner les accumulations de chromatine aux nœuds d'un réseau (Netzknoten de FLEMMING).

Les travaux récents.

Observations vitales. — L'existence d'une structure réelle dans le noyau quiescent a été l'objet de nombreuses controverses : beaucoup de cytologistes pensant que la structure réticulée observée était due à la coagulation d'un nucléoplasme homogène. Les récentes recherches ont confirmé dans l'ensemble les observations de FLEMMING : les noyaux de nombreux Végétaux possèdent « in vivo » une charpente réticulée de chromatine plus ou moins accentuée par l'action des fixateurs. C'est ce qu'ont démontré les nombreuses observations vitales de LITARDIÈRE, CHODAT et surtout MARTENS et GUILLIERMOND.

Les recherches de MARTENS (1927-1930) portèrent sur les radicules de *Listera*, *Solanum*, *Callitriche*, sur les poils staminaux de *Tradescantia* et sur les stigmates plumeux de Graminées. Cet auteur prenait des précautions minutieuses pour éviter toute pression sur les objets observés, et pratiquait la « fixation contrôlée » en introduisant une goutte de fixateur : il pouvait constater que la fixation conserve la structure du noyau.

Les observations de MARTENS furent confirmées par les travaux de GUILLIERMOND sur les écailles du bulbe d'*Allium Cepa* et sur les feuilles de Tulipe : dans ces observations vitales, le noyau se montre nettement structuré.

Cependant, EICHORN, comme avant lui GUILLIERMOND, observe des noyaux d'aspect « homogène » dans lesquels on ne distingue aucun réseau. « in vivo », mais où il réussit à mettre en évidence, par une coloration post-vitale au bleu de méthylène, la présence de prochromosomes.

Si grands que fussent les arguments en faveur de l'existence d'une structure nucléaire dans le noyau quiescent, on pouvait toujours objecter que les observations « in vivo » étaient faites dans des conditions modifiant la vie des cellules végétales et donnant ainsi une apparence structurée au noyau. La preuve irréfutable de l'existence

d'une structure nucléaire a été donnée par GUILLIERMOND et GAUTHERET (1937). En effet, ces auteurs ont mis au point une technique permettant d'examiner les noyaux de cellules de racines en voie de croissance. L'examen ainsi fait des cellules de la coiffe du Blé, montre que leurs noyaux possèdent une structure réticulée semblable à celle révélée par les fixateurs. En observant dans les mêmes conditions les poils absorbants du Radis, on voit que le noyau y est dépourvu de réseau : dans la caryolymphe homogène on distingue nettement des prochromosomes de réfringence analogue à celle du nucléole.

Ces observations vitales ont démontré que le noyau possède réellement une structure plus ou moins complexe et qu'il n'est pas homogène comme le croyaient certains biologistes.

Réseau, chromocentres, prochromosomes, euchromocentres. — Nous avons vu que l'existence d'un réseau de chromatine dans certains noyaux ne pouvait être mise en doute. Ce réseau peut porter des amas de chromatine (Netzknotten de FLEMMING). En 1931, EICHORN propose de réserver le terme de *chromocentres* à ces granulations chromatiques portées par le réseau.

La structure à *prochromosomes* décrite par OVERTON et d'autres auteurs était à peu près tombée dans l'oubli. Elle avait cependant été retrouvée par DE LITARDIÈRE (1922) et SCHILLER (1928); mais c'est EICHORN qui, le premier, en entrevit l'importance. En 1931, étudiant les Cucurbitacées il écrit : « Ici, les prochromosomes ne sont autres que les chromosomes eux-mêmes qui passent en fin de télophase tels quels dans le noyau au repos ».

A la même époque (1931), GRÉGOIRE décrit un type de noyau à « *euchromocentres* » ou à *chromocentres* véritables en désignant ainsi les noyaux où les seules parties qui soient chromatiques durant l'interphase, en dehors du nucléole, sont d'appareils corpustules périphériques logés contre le pourtour nucléaire, et dont le nombre peut être égal, ou parfois inférieur au nombre spécifique des chromosomes, mais ne le dépasse jamais », et il ajoute plus loin : les « *euchromocentres* correspondent donc à ce qu'on a appelé aussi les *prochromosomes* ». Ce type nucléaire a été très étudié par Sœur DOUTRELIGNE. Elle note que les *euchromocentres* portent presque toujours une constriction qui correspondrait à leur point d'insertion (c'est-à-dire le point, qui, à la métaphase, se trouve situé dans la plaque équatoriale). A la prophase, de chaque côté du chromocentre, apparaît une traînée d'abord achromatique et du même calibre que le chromocentre lui-même. Ces prolongements devenant de plus en plus marqués les chromosomes se trouvent formés. Pour GRÉGOIRE et son école, les chromosomes restent individualisés dans le noyau quiescent en se déchromatinisant, ils réapparaissent inchangés à la prophase en rassemblant sur eux la chromatine diffuse du nucléoplasme.

En étudiant le *Lupin* (1934), EICHORN, précisant sa conception primitive écrit : « Les prochromosomes, en fin de prophase, perdent leur apparence primitive, nettement globuleuse, et, en s'amincissant, prennent l'aspect de bâtonnets plus ou moins arqués, plus ou moins allongés aussi ». Ainsi définit la notion de prochromosomes est applicable au noyau d'un certain nombre de plantes : quelques Cucurbitacées (1934), *Lupinus*, *Sinapis*, *Cochlearia* (1935).

En 1932, HEITZ publiait un Mémoire dans lequel il distinguait plusieurs sortes de chromocentres : les *mikrochromosomische Chromocentren*, qui correspondent aux euchromocentres de Grégoire et peuvent donner des *Sammelchromocentren* (ou chromocentres composés), et les *chromomerische Chromocentren* (chez *Vicia Faba*) qui consistent en *chromomères*, fragments de chromonema fusionnés (1).

Les termes prochromosomes et euchromocentres sont en général considérés comme synonymes par la plupart des auteurs qui les emploient indifféremment l'un pour l'autre. Cependant, EICHORN (1938) applique spécialement le terme d'*euchromocentre* au type de structure qu'il trouve dans le noyau d'*Acacia* écrit : « Le nom d'euchromocentre serait alors donné aux granulations isolées et périphériques présentes dans certains noyaux dépourvus d'autres constituants chromatiques en plus du nucléole, destinées à fournir les chromosomes définitifs grâce à l'adjonction de part et d'autre, de bandes primitivement achromatiques et n'acquérant leur chromaticité qu'au cours de la prophase... ». Ce terme d'euchromocentre ne serait donc pas synonyme de prochromosome ; il s'en distinguerait par une évolution différente, le prochromosome donnant le chromosome définitif « en demeurant toujours parfaitement chromatique ».

Les structures intermédiaires. — Jusqu'à présent, nous n'avons envisagé que les travaux se rapportant à deux types nucléaires : structure réticulée et structure à prochromosomes ou à euchromocentres ; mais des types intermédiaires ont été décrits.

EICHORN (1931) divise les différents types nucléaires en quatre séries : deux types de structure à réticulum, l'un à chromocentres, l'autre sans chromocentres et deux types dépourvus de réticulum (dits homogènes), l'un à chromocentres, l'autre sans chromocentres ; il admet, du reste, tous les intermédiaires.

P. DANGEARD (1937), après avoir étudié une trentaine d'espèces de Phanérogames, y distingue sept groupes de types nucléaires :

(1) D'après HEITZ, les chromosomes métaphasiques sont constitués de deux variétés de chromatine : l'une, l'*euchromatine*, se transforme à la télophase et n'est plus révélée par les colorants dans le noyau interphasique ; l'autre, l'*hétérochromatine*, demeure sans changement dans le noyau au repos ; les chromocentres décrits dans le noyau quiescent sont donc constitués d'hétérochromatine et correspondent à des parties définies de chromosomes métaphasiques, parties dont la localisation dans chaque chromosome changerait suivant les espèces et serait caractéristique de celles-ci.

noyaux finement réticulés, sans chromocentres ou à chromocentres peu apparents.

noyaux du type grossièrement réticulé avec des chromocentres irréguliers sur le réseau (Netzknöten).

noyaux presque homogènes, sans chromocentres.

noyaux se rattachant plus ou moins au type euchromocentrique.

noyaux à chromocentres composés (Sammelchromocentren).

noyaux à chromocentres composés réunis par un réseau.

Pour cet auteur, il n'existe pas de noyaux à structure homogène, c'est-à-dire dont les seuls éléments colorables et distincts dans l'état quiescent ou interphasique seraient les chromocentres ou euchromocentres. Les noyaux auraient toujours une structure très finement réticulée granuleuse. Il conclut son étude en disant : « Il y a donc, d'après nous, toutes sortes d'intermédiaires entre les noyaux du type réticulé et à chromocentres (Netzknöten) et les noyaux euchromocentriques ».

Nucléoles et micronucléoles. — Dans tous les noyaux quiescents des Phanérogames, on constate la présence constante d'un ou plusieurs nucléoles dont la signification et le rôle sont encore très peu connus. Depuis longtemps divers auteurs ont envisagé l'idée d'une participation du nucléole à la formation des chromosomes (VAN CAMP 1924, ZIRKLE 1928). Il est indéniable qu'il existe souvent des rapports figurés entre le nucléole et la chromatine.

SENJANINOVA (1926) signale chez *Ranunculus acris* l'existence de satellites réunis par des filaments au nucléole. P. DANGEARD (1934-37) décrit dans *Lathraea clandestina* des chromocentres reliés au nucléole par de longs filaments chromatiques qui ont « l'apparence d'un bourgeonnement du nucléole ».

Pour certains auteurs (MARSHACK, 1931; HEITZ, 1933) le nucléole prend naissance aux dépens des chromosomes télophasiques et même est sécrété par certains d'entre eux.

L'évolution du nucléole pendant la mitose paraît assez variable. Le plus souvent il disparaît à la fin de la prophase. DE LITARDIÈRE (1935) décrit chez *Lupinus polyphyllus* un cycle fermé du nucléole qui se résorberait dans le fuseau au début de la métaphase et qui, à la télophase, prendrait naissance par condensation, de la matière fusoriale incluse dans le noyau fils.

Dans certains cas, le nucléole présente une évolution tout à fait différente : il est parfois encore présent à la métaphase. Il en est ainsi notamment chez *Acacia* (GHIMPU, 1930), *Phaseolus vulgaris* (GAVAUDAN et YU, 1935), *Ph. Mungo* (1938, YU), chez la Courge (GUILLIERMOND, 1937), etc... Dans ces différents cas le nucléole, souvent après s'être déformé, émigre *in toto* vers l'un des pôles du fuseau, ou alors se

seinde en deux parties le plus souvent inégales qui se dirigent chacune vers l'un des pôles. Les résidus nucléolaires sont rejetés dans le cytoplasme et ne semblent pas se réincorporer aux noyaux fils; cependant, GHIMPU signale, dans *Acacia*, que les nucléoles formés par la bipartition du nucléole père sont intégrés dans les noyaux télophasiques.

On a aussi signalé chez certaines espèces de *Phaseolus* (YU, GAVAUDAN, PELLETIER), de *Lupinus* et de *Quercus* (GAVAUDAN) et chez certaines Cucurbitacées (M^{me} PANCA EFIMIU-HEIM), etc..., la présence d'un *micronucléole* ayant les mêmes affinités chromatiques que le nucléole mais résistant davantage à la différenciation à l'hématoxyline. Au moment de la métaphase ou de l'anaphase, il s'échappe de la région fusoriale par l'un des pôles et ne semble jamais être réincorporé dans les noyaux-fils. Parfois ce micronucléole se scinde en deux parties, chacune se dirigeant vers l'un des pôles du fuseau (M^{me} EFIMIU-HEIM, 1937). On l'a parfois comparé au centrosome des Végétaux inférieurs mais son rôle dans la mitose serait complètement passif.

LE NOYAU DES LÉGUMINEUSES

La famille des Légumineuses a été très étudiée au point de vue caryologique, mais ces études ont porté surtout sur la structure des chromosomes et leur nombre. SENN (1938) a essayé de trouver une relation entre les nombres de chromosomes des différents genres et leur répartition systématique en tribus.

Dans cette famille, on trouve des types d'organisation nucléaire extrêmement variés, allant des formes très riches en chromatine et à réticulum dense, aux noyaux relativement pauvres en chromatine que sont les noyaux à prochromosomes.

Depuis longtemps, la structure réticulée de *Vicia Faba* est connue. EICHORN classe ce noyau dans les types réticulés sans chromocentres ou à chromocentres peu nombreux. Pour HEITZ, les chromocentres de *V. Faba* sont des fragments des chromonemes formés d'hétérochromatine.

La structure des chromosomes du *Pisum* a été étudiée par MARSHAK. P. DANGEARD décrit, dans le noyau quiescent de cette espèce, une structure réticulo-granuleuse.

GHIMPU a étudié le genre *Medicago* et y décrit un noyau quiescent pourvu d'un réticulum sans toutefois préciser davantage (1929). Ce même auteur a étudié aussi quelques espèces d'*Acacia*, il n'y distingue aucun réseau, mais on y voit quelques grains chromatiques dans la cavité nucléaire (1929).

EICHORN a repris cette étude d'*Acacia* (1938) et il y décrit une organisation nucléaire à « euchromocentres » à laquelle nous avons

déjà fait allusion précédemment. Ce même auteur a décrit chez *Crotalaria* une structure nucléaire se rapprochant de celle d'*Acacia*.

On trouve aussi dans les Légumineuses des noyaux à prochromosomes : chez *Lupinus* et *Phaseolus*. Le Lupin a été étudié par de nombreux auteurs, notamment par DE ZEEUW qui en fait un type à euchromocentres et par EICHORN qui en fait un type à prochromosomes et dont il a déjà été question précédemment. Pour P. DAN-GEARD (1939), ce noyau se rattache plus ou moins au type euchromocentrique.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Matériel.

Les observations ont été réalisées uniquement sur des méristèmes radiculaires obtenus par germination des graines sur papier filtre humide dans des boîtes de Petri à l'étuve à 22°. Certaines de ces graines ont des téguments épais et leur germination a été difficile. Nous avons surmonté ces difficultés en les ébouillantant et en les laissant ensuite tremper quelques heures dans l'eau tiède.

Voici la liste des plantes étudiées en suivant l'ordre systématique de TAUBERT :

Mimosoïdées : INGÉES : *Albizia Julibrissin* Durazz.

EUMIMOSÉES : *Mimosa* sp.

Caesalpinioïdées : CASSIÉES : *Ceratonia Siliqua* L., *Cassia* sp.

Papilionacées : SOPHORÉES : *Sophora viciaefolia* Salisb = *Virgilia capensis* Lam.

PODALYRIÉES : *Baptisia australis* R. Br.

GÉNISTÉES : *Crotalaria incana* L., *Lupinus albus* L., *Spartium junceum* L., *Genista tinctoria* L., *Laburnum vulgare* Griseb., *Ulex Europaeus* L., *Cytisus Alschingeri* L., *Sarothamnus scoparius* Koch., *Calycotome spinosa* L.

TRIFOLIÉES : *Ononis rotundifolia* L., *Trigonella Fœnum graecum* L., *Medicago Echinus* D. C., *Melilotus officinalis* Lam., *Trifolium rubens* L.

LOTÉES : *Anthyllis tetraphylla* L., *Securigera Coronilla* D. C., *Hymenocarpus circinnatus* Savi., *Dorycnium suffruticosum* Vill.

GALÉGÉES : *Indigofera tinctoria* L., *Psoralea bituminosa* L., *Amorpha fruticosa* L., *Galega officinalis* L., *Wistaria sinensis*, Sweet., *Colutea cruenta* Dryan., *Glycyrrhiza echinata* L.

HÉDYSARÉES : *Hedysarum obscurum* L., *Coronilla viminalis* Salisb., *Ornithopus sativus* Brot., *Hippocrepis unisiliquosa* L., *Scorpiurus muricata* L., *Orobrychis Caput-galli* Lam.

VICIÉES : *Cicer arietinum* L., *Vicia Faba* L., *Lens esculenta* Moench., *Lathyrus Cicer* L., *Pisum sativum* L., *Abrus precatorius* L.

PHASÉOLÉES : *Glycine Soja* Sieb. *Phaseolus vulgaris* L.

Méthodes de fixation.

Nous avons employé comme fixateurs le Helly et le Navachine.

LIQUIDE DE HELLY :

Sublimé	5 gr.
Bichromate de potassium.....	2 gr.
Eau distillée.....	100 cm ³

Au moment de l'emploi, à 9 cm³ de ce mélange on ajoute 1 cm³ de formol à 40 %. La durée de la fixation est de 24 heures. Après la fixation, on lave 24 heures à l'eau courante.

LIQUIDE DE NAVACHINE :

Acide chromique à 1 %.....	10 cm ³
Formol à 40 %.....	4 cm ³
Acide acétique cristallisable.....	1 cm ³

Ce mélange est préparé au moment de la fixation qui dure 24 heures puis on lave pendant 24 heures à l'eau courante.

Méthodes de coloration.

Nous avons employé la coloration à l'hématoxyline et la méthode de Feulgen.

HÉMATOXYLINE :

Les coupes sont mordancées à froid pendant 24 heures dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 3 %. Puis après rinçage on les met pendant 24 heures à froid dans une solution d'hématoxyline ainsi préparée :

Hématoxyline.....	1 gr.
Glycérine.....	10 cm ³
Alcool à 95°.....	10 cm ³
Eau distillée.....	80 cm ³

On différencie ensuite à l'alun de fer et on colore à l'éosine à 1 %.

MÉTHODE DE FEULGEN-ROSSENBECK. — Les coupes sont hydrolysées pendant 15 minutes dans une solution normale d'acide chlorhydrique à 60°; puis on les traite à froid, au moins pendant 2 heures, par le réactif de Schiff. On rince à trois reprises, pendant 3 minutes chaque fois, à l'eau sulfureuse.

Le réactif au Schiff a été préparé comme suit :

On fait dissoudre 1 gr. de fuschine basique pulvérisée dans 200 cc. d'eau à ébullition. Quand le liquide est refroidi à 50°, on ajoute 20 cc. de la solution normale d'acide chlorhydrique. On laisse refroidir jusqu'à 25° et alors on ajoute 1 gr. de bisulfite de sodium anhydre. La solution ainsi obtenue placée dans un flacon bien bouché, doit être décolorée (jusqu'à teinte jaune paille) au bout de quelques heures.

L'eau de rinçage est préparée avant l'emploi : à 200 cc. d'eau distillée, on ajoute 10 cc. d'une solution à 10 % de bisulfite de sodium anhydre et 10 cc. d'H Cl normal.

Avant le montage, les préparations sont colorées dans une solution vert lumière à 1 %.

Discussion des techniques employées.

Le moyen décisif pour reconnaître la justesse des structures observées aurait été l'étude vitale. Nous n'avons pas eu le temps de faire cette étude dont les difficultés, pour un matériel comme le nôtre, constitué par des organes relativement épais et opaques, sont grandes.

A défaut d'observations vitales nous avons fait deux séries de fixations de types différents.

- par une fixation riche en acide acétique : formule de Navachine.
- par un fixateur peu acide : formule de Helly.

Fixateurs acides et fixateurs " délicats ". — Pendant longtemps on a surtout employé des fixateurs acides pour étudier la structure du noyau. Cependant, certains auteurs, comme DE LITARDIÈRE (1921), insistèrent sur les altérations nucléaires que provoquent les fixateurs habituels du noyau, trop riches en acide acétique et préconisèrent l'emploi des fixateurs cytoplasmiques dépourvus de cet acide. NOËL et MANGENOT (1922) remarquent que, dans ces fixateurs cytoplasmiques, l'action fixatrice est due au formol et préfèrent l'emploi du formol sucré ou salé, qui ne modifie pas la nature chimique de la cellule; par contre, la formaline, employée seule est trop acide et altère la morphologie cellulaire. MASCRÉ (1927) a noté que les acides, employés seuls, faisaient apparaître une structure réticulée tandis que, mélangés au formol, ils donnaient au noyau une apparence granuleuse. Des mélanges moins riches en acide ont été alors utilisés (DE LITAR-

DIÈRE, MARTENS) et les fixateurs cytoplasmiques (Regaud p. ex.) ont été avantageusement appliqués au noyau.

En 1936, MILOVIDOV écrit à ce sujet : « ... les recherches récentes sur les cellules végétales s'accordent sur ce qui suit : la fixation par des fixateurs convenables « délicats », dits « mitochondriaux » ... ne fait qu'accentuer la structure existante *in vivo* et n'en produit pas de nouvelles... Tout au contraire les liquides contenant de l'alcool, de l'acide acétique ou d'autres acides forts... révèlent des structures à gros granules ou réticulum avec des grains irréguliers, des filaments, des nœuds et des lamelles ». P. DANGEARD (1937), après avoir comparé les résultats obtenus avec divers fixateurs, conclut que si le Navachine et le Bouin donnent de bons résultats pour l'étude des chromosomes, ils modifient la structure du noyau quiescent en lui donnant un aspect réticulé. Au contraire, le Benda-Meves, le Regaud, le Helly conservent beaucoup mieux cette structure. Quant à EICHHORN il a, depuis longtemps, justement préconisé l'emploi du Helly (1930). Donc, de l'avis de nombreux auteurs, les fixateurs peu acides (type Helly), conservent mieux la structure du noyau quiescent que les fixateurs riches en acide acétique (type Navachine).

Observations personnelles. — Nous avons contrôlé par le fixateur de Navachine les effets produits par le liquide de Helly. Les différences

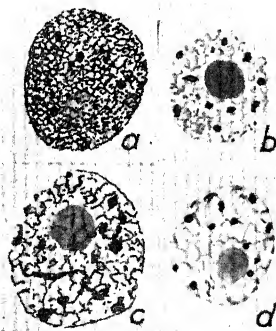


FIG. 1.

FIG. 1. — Noyaux quiescents de *Vicia Faba* L.
a, noyau fixé au Helly, coloré au Feulgen,
b, noyau fixé au Helly, coloré à l'hématoxyline,
c, noyau fixé au Navachine, coloré au Feulgen,
d, noyau fixé au Navachine, coloré à l'hématoxyline.



FIG. 2.



FIG. 3.

FIG. 2. — Noyaux quiescents de *Phaseolus vulgaris* L.
a, noyau fixé au Helly, coloré au Feulgen,
b, noyau fixé au Navachine, coloré à l'hématoxyline.

FIG. 3. — Noyaux quiescents de *Ceratonia Siliqua* L.
a, noyau fixé au Helly, coloré au Feulgen,
b, noyau fixé au Navachine, coloré à l'hématoxyline.

observées ne sont pas très grandes. Nous allons prendre quelques exemples.

Examinons le cas de *Vicia Faba* dont la structure réticulée est bien connue : les noyaux fixés au Helly (fig. 1, *a* et *b*) présentent un réticulum fin et régulier alors que ceux fixés au Navachine (fig. 1 *c* et *d*), montrent un réseau plus grossier et déchiré.

Si on considère maintenant un noyau à prochromosomes, comme celui du *Phaseolus*, on voit que l'auréole périnucléolaire est plus grande dans le cas du matériel fixé au Navachine (fig. 2, *b*) que pour celui fixé au Helly (fig. 2, *a*); mais les deux images se ressemblent cependant beaucoup.

Dans *Ceratonia Siliqua* L., dans lequel on observe après fixation au Helly et coloration au Feulgen, un réseau serré et très peu chromatique (fig. 3, *a*), les coupes fixées au Navachine montrent une très large auréole périnucléolaire et le réseau se trouve difficilement observable (fig. 3, *b*).

Nous avons fait des constatations semblables aux précédentes sur divers matériels. Pour les figures de mitose au contraire, les deux fixateurs donnent les mêmes résultats.

Comparaison entre les colorations à l'hématoxyline et la méthode de Feulgen. — Nous avons aussi comparé les résultats obtenus par les deux méthodes de coloration : Feulgen et hématoxyline.

Prenons le cas de *Vicia Faba*. Dans les coupes colorées au Feulgen, quel que soit le fixateur (Helly ou Navachine), on observe un réticulum violet portant quelques chromocentres pas toujours très distincts (fig. 1, *a* et *c*). Dans les coupes colorées à l'hématoxyline (fig. 1, *b* et *d*) les chromocentres apparaissent en noir sur un réseau gris. Si la différenciation à l'alun de fer est plus poussée le réseau peut devenir à peu près invisible, alors que les chromocentres sont encore très noirs. Cette différenciation par l'alun de fer est assez délicate, car le noyau quiescent est beaucoup plus sensible à la régression que les figures de mitose. Ces colorations indiquent une chromaticité maximum à la métaphase et à l'anaphase, au niveau des chromosomes. La méthode de Feulgen indique aussi une augmentation de chromaticité au cours de la mitose : la coloration en violet s'intensifie de la prophase à la métaphase; mais ces différences de chromaticité sont beaucoup moins marquées que dans le cas de l'hématoxyline.

Les colorations par l'hématoxyline ne révèlent pas toujours la présence de la chromatine, définie comme étant principalement constituée d'acide thymonucléique. Sœur DOUTRELIGNE notait que la chromaticité des euchromocentres varie d'un noir intense à un gris à peine plus foncé que celui du corps achromatique, mais que le Feulgen lui montrait toujours « des euchromocentres bien marqués et bien chromatiques. » De même, P. DANGEARD observe, dans *Lupinus*

albus, fixé au Regaud et coloré à l'hématoxyline, que le noyau paraît homogène et que les chromocentres y sont invisibles et il écrit : « pourtant ces chromocentres n'ont pas été dissous par le fixateur, car on peut les colorer par la méthode de Feulgen; ils sont seulement très sensibles à la décoloration au cours de la régression dans la méthode ordinaire à l'hématoxyline de Heidenhain. »

On peut rapprocher ceci de ce que nous avons observé dans *Vicia Faba* où, dans les noyaux colorés par le Feulgen, on observe des chromocentres et un réseau ayant une chromaticité à peu près égale, donc également riches en acide thymonucléique, alors que les colorations à l'hématoxyline montrent une chromaticité beaucoup plus forte des chromocentres.

La réaction de Feulgen est une véritable réaction microchimique : une faible hydrolyse par les acides détache les bases puriques de l'acide thymonucléique en libérant de cette manière les groupes aldéhydiques qui restent *in situ* dans la préparation et qui sont capables de recolorer la fuschine décolorée par SO_2 . MILOVICOV déclarait à ce propos : « La réaction nucléale n'est donc pas une simple réaction d'aldéhydes, mais une réaction d'aldéhydes libérées d'une certaine manière et dans certaines conditions de composés plus ou moins bien définis... » Il est certain que la réaction de Feulgen donne une indication précise de la présence de l'acide thymonucléique d'une façon à la fois qualitative et quantitative (1).

*
*
*

Ces diverses considérations nous ont incitée à utiliser de préférence le fixateur de Helly et la coloration par la méthode de Feulgen. Les préparations de matériel fixé au Navachine et coloré par l'hématoxyline nous ont surtout servi pour l'étude de la prophase et de la métaphase et pour la lecture des plaques équatoriales.

STRUCTURE NUCLÉAIRE CHEZ QUELQUES ESPÈCES DE LÉGUMINEUSES

Nous décrirons la structure nucléaire des diverses espèces étudiées en suivant l'ordre systématique donné par TAUBERT; nous mentionnerons au passage les sections qui n'ont été l'objet d'aucune étude de notre part.

(1) Sur l'application de la méthode de Feulgen à l'étude des cellules végétales, on consultera en outre les Mémoires de M^{me} HUREL-PY (1936), SCHÆDE (1937), (1939).

Sous-famille I. — MIMOSOIDEAETRIBU 1 : Ingeae.

Nombre de genres : 10; étudié : 1.

Albizia Julibrissin DURAZZ. — Le nombre diploïde de chromosomes de cette espèce a été compté par YAMAZAKI (1936) et par SENN (1938). Il s'élève généralement à 26 (parfois à 52 d'après SENN). Le noyau interphasique présente un nucléoplasme presque homogène et très peu chromatique (légèrement coloré en rose par le Feulgen). Il n'y a généralement qu'un seul nucléole porteur d'une ou plusieurs granulations chromatiques colorables en violet par la méthode de Feulgen. Sur la membrane nucléaire sont fixés des chromocentres. Leur nombre est fort peu élevé dans les noyaux quiescents surtout quand on considère ceux des parties plus âgées de la racine (fig. 1, planche XII). Au contraire certains noyaux présentent un nombre beaucoup plus grand de chromocentres : il semble donc que la préprophase soit caractérisée par la réapparition des chromocentres déchromatinisés dans le noyau au repos. A ce stade les chromocentres ont des formes assez variables et présentent parfois une constriction centrale ou sont prolongés par de petits filaments très chromatiques (fig. 2 et 3, pl. XII). Puis le nucléoplasme se décolore tandis que les chromosomes définitifs, toujours assez courts, sont formés.

TRIBU 2 : *Acacieae* : non étudiée (1).TRIBU 3 : Eumimoseae.

Nombre de genres : 4; étudié : 1.

Mimosa sp. — Le nombre de chromosomes de cette espèce n'a pas été compté par nous, mais il s'élève à 48 chez *Mimosa pudica* (KAWAKAMI, 1930). Le noyau quiescent (fig. 4, pl. XII) présente un nucléoplasme d'aspect dense (peut-être très finement granuleux), portant quelques chromocentres de taille variable, un ou deux étant parfois très volumineux. Généralement, il existe un seul nucléole portant des granulations chromatiques colorables en violet par le Feulgen. A la préprophase, le nombre de ces chromocentres augmente; à ce stade, ils ont tous sensiblement la même taille et sont de forme ovoïde (fig. 5, pl. XII). Ensuite les chromocentres s'allongent (fig. 6, pl. XII) tandis que

(1) Quelques espèces d'*Acacia* ont été étudiées par GHIMPU (1929), puis par EICHORN (1937). GHIMPU croit devoir distinguer, du point de vue caryologique, les *Acacias* australiens des espèces d'origine différente. Pour EICHORN, cette différence n'est pas fondée. Ce dernier auteur classe la structure nucléaire rencontrée chez *Acacia* dans le type à euchromocentres comme nous l'avons dit précédemment.

le nucléoplasme se décolore et, en fin de prophase, la caryolympe apparaît complètement vide.

TRIBU 4 : *Adenanthereae*, non étudiée.

TRIBU 5 : *Piptadenieae*, non étudiée.

TRIBU 6 : *Parkieae*, non étudiée.

Sous famille II. — CAESALPINIOIDEAE.

TRIBU 1 : *Dimorphandreae*, non étudiée.

TRIBU 2 : *Cynometereae*, non étudiée.

TRIBU 3 : *Amherstieae*, non étudiée.

TRIBU 4 : *Bauhiniae*, non étudiée.

TRIBU 5 : *Cassieae*.

nombre de genres : 13; étudié : 1.

Cassia sp. (1). — Les nombres de chromosomes sont très variés dans ce genre ($2n = 16, 24, 26, 32$). Le suc nucléaire, homogène ou presque homogène, est légèrement coloré en rose par la réaction de Feulgen. Il contient des chromocentres volumineux (fig. 7, pl. XII), toujours très chromatiques, même dans les parties plus âgées de la racine (fig. 8, pl. XII). Le nucléole est d'assez grande taille et porte presque toujours quelques granulations de chromatine. A la prophase, les chromocentres s'allongent (fig. 9, pl. XII), puis donnent des chromosomes en bâtonnets ou en V, toujours assez courts. Cette structure nucléaire se rattache nettement au type à euchromocentres.

Ceratonia Siliqua L. — Les coupes colorées au Feulgen montrent un réseau très fin, très peu chromatique et dépourvu de chromocentres (fig. 10, pl. XII). Cependant, le nucléole porte souvent de minuscules ponctuations colorables en violet par le Feulgen. Il est aussi porteur de façon presque constante, d'une ou plusieurs petites protubérances colorables par le vert lumière (fig. 11, pl. XII), et on note aussi souvent la présence d'un petit nucléole. A la prophase, quelques granulations chromatiques de petite taille apparaissent, tandis que certaines travées du réseau se renforcent et deviennent plus chromatiques (fig. 12, pl. XII). A un stade ultérieur on observe de longs filaments (fig. 13, pl. XII) qui se raccourcissent peu à peu pour donner des chromosomes assez courts.

Le nombre de chromosomes du genre *Ceratonia* n'a, à notre connaissance, jamais été compté. Nous avons fait des coupes transversales qui nous ont permis l'examen de plaques équatoriales. Nous y avons compté 22 chromosomes (fig. 4).

• (1) Les graines de ce *Cassia* proviennent du Gabon; l'espèce appartient à la section des *Cassia* à gousses déhiscentes.

Les coupes colorées à l'hématoxyline montrent un nucléoplasme assez épais, mais où on ne peut pas suivre de réseau (fig. 3, d). On n'y voit aucun chromocentre, mais un ou deux nucléoles de tailles différentes.

TRIBU 6 : *Kramerieae*, non étudiée.

TRIBU 7 : *Eucaesalpineae*, non étudiée.

TRIBU 8 : *Sclerolobieae*, non étudiée.

TRIBU 9 : *Tounatecae*, non étudiée.

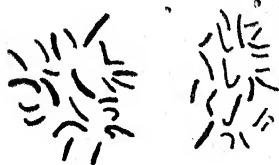


FIG. 4. — Plaques équatoriales de *Ceratonia Siliqua* L.

Sous famille III. — PAPILIONATAE

TRIBU 1 : Sophoreae

nombre de genres : 33; étudié : 1.

Sophora viciaefolia Salisb = *Virgilia capensis* Lam. — Le nombre de chromosomes n'a pas été compté. On voit, dans le noyau, un réticulum lâche et irrégulier avec quelques petits chromocentres généralement peu nombreux (fig. 14, pl. XII). A la prophase, certains filaments du réseau se renforcent alors que d'autres disparaissent (fig. 15, pl. XII). On observe ensuite de longs filaments (fig. 16, pl. XII) qui, en se coupant et se raccourcissant, donnent les chromosomes définitifs, assez allongés.

TRIBU 2 : Podalyrieae

nombre de genres : 35; étudié : 1.

Baptisia australis R. Br. — Le nombre diploïde des chromosomes s'élève à 18 (TSCHECHOW, 1931). Le noyau quiescent, (fig. 17, pl. XII) montre un fin réseau portant quelques petits chromocentres. Certains noyaux ne sont pas uniformément colorés mais présentent des plages où le réseau paraît plus serré et par là même plus chromatique (fig. 18, pl. XII). Le nucléole porte presque toujours une petite protubérance colorable par le vert lumière (fig. 17, pl. XII), et d'autre part, on trouve souvent fixées sur lui des granulations de chromatine. Souvent on peut aussi constater la présence d'un petit nucléole (fig. 19, pl. XII). A la

prophase, certains filaments du réseau deviennent plus chromatiques; puis, après un stade où l'on a de longs filaments, les chromosomes définitifs se forment (fig. 19, pl. XII).

TRIBU 3 : **Genisteeae.**

SOUS-TRIBU a : *Lipariinae* : non étudiée.

SOUS-TRIBU b : *Boissiaeinae* : non étudiée.

SOUS-TRIBU c : **Crotalarinae.**

nombre de genres : 19; étudié : 1.

Crotalaria incana L. — SENN (1938) a compté le nombre de chromosomes de cette espèce dans la méiose et le trouve égal à 7, donc $2n = 14$. Le noyau interphasique apparaît comme étant très finement réticulé granuleux (fig. 20 et 21, pl. XII). Par la coloration au Feulgen, certaines plages du réticulum sont teintées en violet alors que le reste devient rose : il est donc irrégulièrement chromatique. Au début de la prophase, le réseau semble se découper en minces bandes chromatiques, parallèles les unes aux autres (fig. 22 et 23, pl. XII), qui en se tassant sur elles-mêmes donnent de longs filaments irréguliers, sinueux, parfois granuleux (fig. 24 et 25, pl. XII). Ces filaments se coupent et se raccourcissent pour donner, en fin de prophase, des chromosomes assez allongés (fig. 26, pl. XII). Dans les cellules des parties plus âgées de la racine, les noyaux présentent un réseau peu chromatique mais dont certains filaments sont parfois très colorés, se détachant nettement de l'enchylème rosé (fig. 27, 28, pl. XII). Ces noyaux portent le plus souvent des chromocentres de taille et de forme variable et peu chromatiques.

En 1937, EICHHORN, étudiant deux espèces de *Crotalaria* (*C. fulva* et *C. spinosa*), y décrit un noyau peu chromatique, porteur de quelques fines granulations colorées en noir par l'hématoxyline quand « la régression à l'alun est peu poussée, maintenant en quelque sorte une surcoloration. » D'autre part, il note que le début de la mitose est marqué par l'acquisition d'une plus forte chromatécité de la part des chromocentres qui, en même temps, grossissent; de plus la consistance du suc nucléaire augmente et il « se découpe en forme de minces et longues lanières sinueuses... A chaque chromocentre est ainsi rattaché de chaque côté un ruban, d'abord chromatique, qui se raccourcit peu à peu à mesure que la prophase avance en même temps qu'il acquiert une chromatécité égale à celle des chromocentres... ». En 1939, dans une étude caryologique de quelques espèces d'*Acacia*, ce même auteur écrit : « ces images (du noyau d'*Acacia*) sont comparables à celles décrites dans *Crotalaria* ». Il semble donc que cet auteur considère

que la structure nucléaire de *Crotalaria* se rattache au type dit « à euchromocentres » tel qu'il le décrit dans *Acacia*.

L'examen de préparations de *C. incana*, fixées au Helly et colorées par l'hématoxyline confirme la description d'EICHORN : dans les coupes colorées à l'hématoxyline le noyau quiescent apparaît avec un enchylème épais portant quelques chromocentres (fig. 5).



FIG. 5. — Noyau de *Crotalaria incana* L., fixé au Helly, coloré à l'hématoxyline.

Par conséquent, les deux méthodes de coloration (hématoxyline ferrique et méthode de Feulgen) aboutissent à des résultats discordants quant à la structure du noyau quiescent : l'hématoxyline ne révèle, dans le noyau quiescent, qu'une partie de la chromatine (hétérochromatine de HERRZ); la technique de Feulgen, au contraire — et de là vient sa supériorité — révèle toute la chromatine du noyau. L'évolution de la prophase de *Crotalaria incana* se rattache nettement, d'ailleurs, à celle qu'on suit habituellement dans les noyaux réticulés : il y a, en effet, formation de longs filaments qu'on ne rencontre pas dans l'évolution mitotique des types à euchromocentres. Quant aux chromocentres révélés d'une façon si précise par la coloration à l'hématoxyline, on peut les distinguer très nettement dans les noyaux interphasiques des préparations colorées au Feulgen (fig. 29, pl. XII).

SOUS-TRIBUS d et e : Spartiinae et Cytisinae.

Les sous-tribus des *Spartiinae* et des *Cytisinae* ont été séparées par TAUBERT (1894) en se basant sur la présence ou l'absence d'une arille sur la graine. Ce caractère est considéré par CAPITAIN (1912) comme trop variable pour séparer les genres *Genista* et *Cytisus* qu'il réunit sous le même nom. Du reste, on les groupe parfois en une même sous-tribu : *Genistinae*. Pour la commodité de l'exposé nous les étudierons ensemble car les différentes espèces présentent une structure nucléaire analogue.

SPARTIINAE : nombre de genres : 9, étudiés : 5.

Lupinus albus L., $2n = 50$ (TUSCHNJAKOWA, 1935).

Spartium junceum L., $2n = 48-52$ (TSCECHOW, 1931).

Genista tinctoria L., $2n = 48$ (TSCECHOW, 1931).

Loburnum vulgare Griseb., $2n = 48$ (STRASBURGER, 1905-06-07).

Calycolome spinosa L.

CYTISINAE : nombre de genres : 4, étudiés : 2.

Ulex europaeus L., $2n = 96$ (TSCHICHOW, 1931).

Cytisus Alschingeri L., $2n = 48$.

Cytisus scoparius Link. (= *Sarothamnus scoparius* Koch.) = 48 (SUGIURA, 1931).

Lupinus albus L. — L'étude caryologique de diverses espèces de Lupin a été faite par plusieurs auteurs. En 1913, DE SMET écrivait à ce sujet : « plante à petits chromosomes... leur nombre est voisin de 40. » Plus récemment, EICHHORN (1934) considère ce noyau comme appartenant au type à prochromosomes et DE ZEEUW (1936) y décrit une structure euchromocentrique, de même que P. DANGEARD (1937):

Le noyau quiescent (fig. 30, pl. XII) a un nucléoplasme homogène ou presque qui est coloré en rose par la méthode de Feulgen. Contre la membrane nucléaire sont fixés des chromosomes ovoïdes, à peu près tous de la même taille. Généralement il y a un seul nucléole qui porte, presque toujours, des granulations chromatiques colorables en violet par le Feulgen.

A la prophase, les chromocentres s'allongent tandis que le nucléoplasme se décolore, et en fin de prophase on a des chromosomes en bâtonnets ou arqués, toujours assez courts (fig. 31, pl. XII).

Dans les parties plus âgées de la racine le nucléoplasme a un aspect moins homogène mais pas plus chromatique ; les chromocentres ont des formes plus allongées, ou en haltères (fig. 32, pl. XII).

Les coupes à l'hématoxyline nous montrent la même structure, elles permettent aussi de voir que dans cette espèce le nucléole ne disparaît pas toujours à la fin de la prophase. Souvent à la métaphase il se déforme et se dirige vers l'un des pôles (fig. 6). Parfois il se scinde



FIG. 6. — Evolution du nucléole chez *Lupinus albus*.

en deux parties, chacune se dirigeant vers l'un des pôles. Il semble que ces résidus nucléolaires soient ensuite rejetés dans le cytoplasme où ils disparaissent avant la télophase.

Le noyau du Lupin paraît donc être, comme l'a montré EICHHORN, un noyau à prochromosomes (euchromocentres); cependant, il est difficile

de vérifier si ces corpuscules sont en même nombre que les chromosomes, ceci en raison de leur nombre élevé et de leur petite taille. D'autre part, ces prochromosomes persistent-ils tous dans le noyau quiescent? P. DANGEARD écrit à ce propos : « nous n'avons pas obtenu de certitude au sujet de la persistance des chromocentres à tous les stades de l'interphase. Avec tous les fixateurs on peut trouver des noyaux dépourvus parfois de chromocentres périphériques », ce qui semble s'appliquer à des préparations colorées à l'hématoxyline car il déclarait un peu avant : « La méthode de Feulgen fait apparaître dans tous les noyaux quiescents des chromocentres colorés en rouge par la fuschine, cependant dans les noyaux au repos, les chromocentres peuvent être très petits et ils passent facilement inaperçus. » Nous n'avons pas observé de noyaux dépourvus de chromocentres, même dans les parties plus âgées de la racine : parfois leur taille diminue, mais leur nombre semble rester constant. Du reste, ces diminutions de taille ou de chromaticité des chromocentres sont pour ainsi dire individuelles, en ce sens qu'elles n'atteignent que quelques-uns des prochromosomes d'un même noyau, les autres, au contraire, peuvent augmenter de taille et prendre des formes variées.

Spartium junceum L., *Genista tinctoria* L., *Laburnum vulgare* Griseb., *Ulex europaeus* L., *Cytisus Alschingeri* L., *Sarothamnus scoparius* Koch., *Calycotome spinosa* L.

Nous étudierons ensemble ces diverses espèces qui présentent des structures nucléaires analogues les unes aux autres. Le noyau interphasique a un nucléoplasme très finement structuré portant des chromocentres ovoïdes ou sphériques et le plus souvent de petite taille (fig. 33 à 39 inclus, pl. XII). Généralement, il existe un seul nucléole qui porte presque toujours des granulations chromatiques colorables par la méthode de Feulgen. A la prophase, l'enchylème se décolore tandis que les prochromosomes s'allongent (fig. 40 et 41, pl. XII). En fin de prophase, les chromosomes formés sont courts et en forme de bâtonnets ou arqués (fig. 42 et 42, pl. XII). La fissuration des chromosomes ne commence qu'à la métaphase.

Dans le noyau quiescent, les chromocentres se déchromatinisent et même parfois disparaissent, en même temps que le nucléoplasme prend un aspect moins homogène. Ceci est surtout net chez *Ulex europaeus* (fig. 44, pl. XII) où, dans les noyaux des parties plus âgées de la racine, les chromocentres sont réduits à l'état de minuscules grains, presque achromatiques, mal distincts de l'enchylème. Souvent, surtout chez *Sarothamnus* (fig. 45, pl. XII), *Genista* (fig. 46, pl. XII), *Cytisus* (fig. 47, pl. XII), *Laburnum* (fig. 48, pl. XII), on a, dans les noyaux des cellules âgées, quelques gros chromocentres très chromatiques. Dans *Calycotome* (fig. 49, pl. XII), les chromocentres se déchromatinisent

beaucoup dans le noyau quiescent mais semblent toujours présents, nettement individualisés.

Les nombres chromosomiques des espèces du genre *Calycotome* ne sont pas connus. Nous avons fait des coupes transversales dans *Calycotome spinosa* L., et les plaques équatoriales nous ont permis d'y compter une quarantaine de chromosomes. Il nous est impossible de préciser nettement le nombre car les images de métaphase sont assez confuses (fig. 7).



FIG. 7. — Plaques équatoriales de *Calycotome spinosa* L.

En résumé, chez les Génistées nous avons trouvé deux sortes d'organisations nucléaires : une propre à *Crotalaria*, l'autre commune aux Spartiinées et Cytisinées étudiées. Le genre *Crotalaria* dont le nombre de chromosomes est toujours peu élevé ($2n = 7, 8$) est considéré comme le représentant le plus ancien des Génistées, alors que les Spartiinées et Cytisinées ont des nombres de chromosomes élevés, ce qui indique une origine relativement récente. Donc, caryologiquement et morphologiquement, *Crotalaria* se sépare du reste des Génistées.

Toutes les autres Génistées sont du type à prochromosomes ou pouvant s'y rattacher bien que, dans le noyau quiescent de la plupart d'entre elles, le nombre de chromocentres diminue nettement. Cependant, on ne distingue jamais la présence d'un réseau et l'évolution de la prophase est en tout point semblable à celle des noyaux à prochromosomes typiques.

TRIBU 4 : Trifoliae.

nombre de genres : 6 ; étudiés : 5.

Ononis rotundifolia L. — Le nombre de chromosomes est de $2n = 32$ (TSCHECHOW, 1932). Le noyau quiescent (fig. 50, 51, 52, 53, pl. XII) présente un nucléoplasme coloré en rose par le Feulgen, portant des chromocentres de formes et de tailles variées : les uns ovales et assez volumineux, les autres petits et ponctiformes. Ces chromocentres sont reliés entre eux par un réseau lâche, très chromatique par endroits, formé de fines trabécules avec, par place, des empâtements de chromatine d'aspect granuleux. A la prophase ce réseau se renforce, tandis

que les chromocentres s'amincissent et que l'enchylème se décolore. Certains filaments s'épaississent (fig. 54, pl. XII) alors que d'autres disparaissent, et l'on arrive à un stade à longs filaments parallèles les uns aux autres (fig. 55, pl. XII), qui, se coupant et se raccourcissant, donnent les chromosomes définitifs, qui sont assez allongés (fig. 56, pl. XII).

Trigonella Fœnum graecum. L. — Le nombre de chromosomes de cette espèce a été compté par FRYER (1930), il s'élève à 16. Le noyau quiescent (fig. 57 et 58, pl. XII) présente un réseau plus serré et plus régulier que chez *Ononis*. Par endroits ce réseau se resserre pour donner des plages d'apparence plus chromatique que le reste du réticulum. On note la présence d'un petit nombre de chromocentres.

Medicago Echinus D. C. — Le genre *Medicago* a été étudié par GHIMPU à plusieurs reprises (1928, 1929, 1930). Il y décrit un noyau réticulé et y compte 16 chromosomes. La structure du noyau quiescent ressemble à celle de *Trigonella* mais le réseau y est moins chromatique et les chromocentres y sont plus nombreux et plus gros (fig. 59, pl. XII). Dans les noyaux du méristème le nucléole est très volumineux (fig. 60, pl. XII).

Melilotus officinalis Lam. — Le nombre de chromosomes y est de 16 (CLARKE, 1932, 1934). La structure du noyau quiescent (fig. 61, pl. XII) est la même que dans les espèces précédentes. On y a un enchylème rose avec un réticulum lâche portant de nombreux chromocentres parfois volumineux et de formes variées.

Trifolium rubens L. — Le nombre diploïde des chromosomes est de 16 (KARPECHENKO, 1925). Le noyau quiescent a un enchylème coloré en rose par le Feulgen, avec un réticulum peu chromatique portant de nombreux chromocentres plutôt petits (fig. 62, pl. XII).

Ces différentes espèces de Trifoliées présentent donc des organisations nucléaires analogues : réseau léger, lâche, à chromocentres. La prophase se fait par individualisation de certains filaments du réseau qui se chromatinisent aux dépens du suc nucléaire et des chromocentres. On a des stades à longs filaments comme on en rencontre dans la cinèse des noyaux réticulés typiques.

Les colorations à l'hématoxyline montrent un enchylème légèrement structuré, uniformément gris, et portant des chromocentres dont la taille et la forme rappellent très exactement celles révélées par le Feulgen.

TRIBU 5 : Lotaeae.

nombre des genres : 8; étudiés : 3.

Anthyllis tetraphylla L. — Le nombre diploïde de chromosomes a été compté par TSCHÉCHOW et KARTASCHOWA (1932), il est égal à 16. Le noyau quiescent (fig. 1 et 2, pl. XIII) a un réseau fin, très chromatique, le plus souvent réparti en longues travées sur un nucléoplasme légèrement rosé. Par endroits, ce réseau se tasse pour former des plages compactes, qui apparaissent plus colorées que le reste du noyau. On note la présence de quelques petits chromocentres aux nœuds du réseau. A la prophase, certaines travées du réticulum se renforcent (fig. 3, pl. XIII) et deviennent plus chromatiques, en donnant de longs filaments parallèles les uns aux autres. En fin de prophase on a des chromosomes assez allongés, généralement arqués (fig. 4, pl. XIII).

Hymenocarpus circinnatus Sav. $2n = 16$ (TSCHÉCHOW et KARTASCHOWA, 1932). — Le noyau quiescent (fig. 5, pl. XIII) présente un réticulum régulier, serré et très chromatique, portant des chromocentres aux nœuds du réseau. Parfois un ou deux chromocentres volumineux se trouvent placés sur le nucléole. L'évolution de la prophase est en tout point semblable à celle décrite précédemment chez *Anthyllis* (fig. 6, pl. XIII : début de prophase).

Securigera coronilla D. C. $2n = 12$ (TSCHÉCHOW et KARTASCHOWA, 1932). — On observe chez le noyau quiescent un réticulum à chromocentres de petite taille comme chez *Hymenocarpus* (fig. 7, pl. XIII). Dans certains noyaux le réseau se resserre par endroits, en donnant des plages apparaissant plus colorées que le reste du réticulum (fig. 8, pl. XIII). Souvent on note des granulations chromatiques au voisinage du nucléole. La prophase est la même que celles d'*Anthyllis*.

Doryenium suffructicosum Vill. $2n = 14$ (TSCHÉCHOW et KARTASCHOWA, 1932). — On y observe un fin réticulum portant des chromocentres généralement assez petits dont quelques-uns sont fixés sur le nucléole (fig. 9, pl. XIII). En fin de prophase on a des chromosomes assez allongés (fig. 10, pl. XIII).

Ces différentes espèces de Lotées possèdent donc des structures nucléaires analogues : réticulum fin très chromatique portant le plus souvent quelques chromocentres. Les chromosomes définitifs de fin de prophase sont assez allongés.

TRIBU 6 : Galegeae.

nombre des genres : 61; étudiés : 6.

SOUS-TRIBU a : Indigoferinae.

nombre des genres : 2; étudié : 1.

Indigofera tinctoria L. $2n = 32$ (KAWAKAMI, 1930). — Le noyau quiescent est constitué par un réseau très fin et régulier, dans lequel on ne distingue parfois qu'un ou deux chromocentres de petite taille (fig. 11, pl. XIII). A la prophase, certaines travées du réseau se renforcent et donnent des filaments parallèles les uns aux autres (fig. 12, pl. XIII), qui, en se coupant et se raccourcissant constituent des chromosomes assez allongés (fig. 13, pl. XIII). En général, il y a un seul nucléole.

SOUS-TRIBU b : Psoraliinae.

nombre de genres : 8; étudié : 1.

Psoralea bituminosa L. — Le nombre de chromosomes est de $2n = 20$ (KREUTER, 1920). Le noyau quiescent montre un nucléole baignant dans un nucléoplasme légèrement structuré. Contre la membrane nucléaire, et aussi contre le nucléole, on a des chromocentres généralement ovoïdes, tous à peu près de la même taille (fig. 14, pl. XIII). Au début de la prophase ils s'allongent tandis que le nucléoplasme se décolore. En fin de prophase, on a des chromosomes courts en forme d'arcs ou de batonnets (fig. 15, pl. XIII). Cette structure nucléaire se rattache au type à prochromosomes.

SOUS-TRIBU c : *Brongniartiinae* : non étudiée.

SOUS-TRIBU d : Tephrosiinae.

nombre de genres : 16; étudiés : 2.

Galega officinalis L. — Le nombre de chromosomes y est de $n = 8$ (KREUTER, 1930), confirmé par TSCHECHOW (1930) et par SENN (1938) qui le trouvent égal à 16 dans la mitose somatique. Dans les noyaux interphasiques ou quiescents, on voit un réticulum très chromatique et irrégulier, avec des empâtements de chromatine et parfois des granulations assez peu distinctes (fig. 16 et 17, pl. XIII). Il y a un seul nucléole et l'enchylème semble être incolore. La prophase est celle d'un noyau réticulé : apparition de longs filaments parallèles par suite du renforcement de certaines parties du réseau (fig. 18, pl. XIII). Ces filaments donnent les chromosomes qui sont assez allongés (fig. 19, pl. XIII).

Wistaria sinensis Sweet. — Le nombre de chromosomes a été compté par ROSCOE dans la méiose où il est de 8, donc $2n = 16$. Le noyau quiescent présente une caryolympe colorée en rose par le Feulgen et portant de petits chromocentres fixés sur la membrane nucléaire (fig. 20 et 21, pl. XIII). A première vue ce noyau rappelle l'aspect d'un type à prochromosomes. Un examen plus attentif permet

d'y distinguer l'existence d'un fin réseau. En effet, les chromocentres sont réunis entre eux par de fines trabécules parfois très chromatiques, qui alors peuvent être suivis facilement (fig. 22, pl. XIII). Du reste l'évolution qu'on observe à la prophase se rapproche de celle des types réticulés. On voit en effet apparaître de longues travées chromatiques très minces, parallèles les unes aux autres (fig. 23, pl. XIII), se renforçant pour donner de longs filaments sinueux (fig. 24, pl. XIII), qui donneront les chromosomes définitifs assez allongés (fig. 25, pl. XIII).

Les colorations à l'hématoxyline montrent un noyau quiescent à enchylème légèrement structuré portant quelques chromocentres (fig. 8, *a* et *b*). Les figures de prophase sont les mêmes que celles obser-

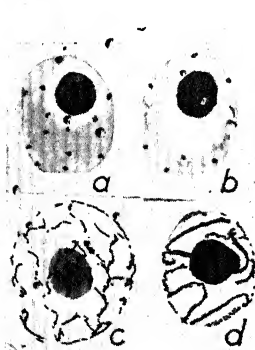


FIG. 8.

FIG. 8. — *a* et *b* : noyaux quiescents de *Wistaria sinensis* Sweet.
a, noyau fixé au Helly et coloré à l'hématoxyline,
b, noyau fixé au Navachine et coloré à l'hématoxyline,
c et *d*, 2 stades de prophase (fixation au Navachine).

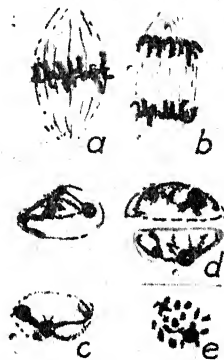


FIG. 9.

FIG. 9. — *a*, métaphase (Navachine-hématoxyline),
b, anaphase (Nav.-hémat.),
c et *d*, télophases (Nav.-hémat.),
e, fin de télophase (Nav.-hémat.).

vées au Feulgen (fig. 8, *c* et *d*). La métaphase et l'anaphase suivent les processus habituels (fig. 9, *a* et *b*). A la télophase, après le tassement polaire de l'anaphase, les chromosomes s'alvéolisent et se déchromatinsent. Le nucléole disparaît toujours à la fin de la prophase: nous n'avons jamais observé de métaphase où il soit présent. A la télophase il semble parfois se former deux petits nucléoles qui doivent se fusionner par la suite (fig. 9, *c* et *d*). Le plus souvent à la fin de la télophase, par les colorations à l'hématoxyline, le noyau a une apparence de type à prochromosomes; le réticulum n'est pas visible (fig. 9, *e*).

SOUS-TRIBU e : *Robiniinae* : non étudiée.

SOUS-TRIBU f : *Coluteinae*.

nombre de genres : 7; étudié : 1.

Colutea cruenta Dryand. — Le nombre de chromosomes qui a été compté dans de nombreuses espèces de *Colutea* est de façon constante égal à 16. Le noyau quiescent présente un nucléoplasme structuré coloré en rose par le Feulgen, qui le plus souvent ne porte pas de chromocentres (fig. 26, pl. XIII) (parfois il y en a cependant un ou deux accolés à la membrane nucléaire, fig. 27, 28, pl. XIII). Par contre le nucléole a toujours, fixées sur lui, une ou plusieurs granulations assez volumineuses, colorables en violet par le Feulgen. Le noyau interphasique (fig. 29, pl. XIII) montre une structure très finement réticulée, peu chromatique; le nucléole porte de façon constante, de petits chromocentres. A la prophase on voit apparaître de longs filaments dont la chromatocité augmente peu à peu (fig. 30, pl. XIII), qui s'épaississent tandis que le nucléoplasme se décolore (fig. 31, pl. XIII). A un stade ultérieur ces filaments se coupent et se raccourcissent pour donner les chromosomes. L'évolution prophasique de *Colutea* confirme l'existence d'un réseau, bien que peu chromatique, dans le noyau quiescent.

SOUS-TRIBU g : *Astragalinae*.

nombre de genres : 11; étudié : 1.

Glycyrrhiza echinata L. $2n = 16$ (le nombre haploïde de chromosomes $n = 8$ a été compté par KRENTZ, 1929-1930). — Le noyau quiescent a une caryolymphe très finement structurée et contenant généralement un seul nucléole. Contre la membrane nucléaire sont fixés de petits chromocentres sphériques (fig. 32, pl. XIII). Au début de la prophase ces chromocentres s'allongent tandis que le nucléoplasme se décolore (fig. 33, pl. XIII).

Chez les Galégées nous avons trouvé toutes sortes de structures nucléaires : depuis les types à réticulum (*Galega*) aux types à prochromosomes (*Psoralea*, *Glycyrrhiza*) en passant par des types intermédiaires (*Wistaria*, *Colutea*).

TRIBU 7 : *Hedysareae*.

nombre de genres : 47; étudiés : 6.

SOUS-TRIBU a : *Coronillinae*.

nombre de genres : 5; étudiés : 4.

Coronilla viminalis L. — Dans le noyau quiescent (fig. 34, pl. XIII) on observe un réticulum assez fin, très chromatique, portant des

chromocentres de petite taille. Généralement il y a un seul nucléole qui porte souvent une petite protubérance colorable par le vert lumière. La prophase suit l'évolution qui est habituelle aux noyaux réticulés (fig. 35 et 36, pl. XIII). A la métaphase, on a des chromosomes allongés, en forme de bâtonnets ou arqués. Le nombre chromosomique de ce genre n'a pas été encore compté. Nous l'avons évalué à 12 (fig. 10).

Scorpiurus muricata L. — Le nombre de chromosomes de ce genre s'élève à 14 (SENN, 1938). Le noyau quiescent présente un réticulum régulier, assez fin, avec par place quelques empâtements de chromatine (fig. 37, pl. XIII). Généralement il n'y a qu'un seul nucléole assez volumineux.

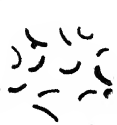


FIG. 10.

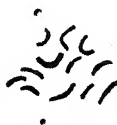


FIG. 11.

FIG. 10. — Plaques équatoriales de *Coronilla viminalis* L.

FIG. 11. — Plaques équatoriales d'*Hippocrepis unisiliquosa* L.

Hippocrepis unisiliquosa L. — Le noyau quiescent (fig. 38, pl. XIII) présente un fin réticulum portant de petits chromocentres ponctiformes. Souvent il y a une ou deux granulations de chromatine fixées sur le nucléole. Par endroits le réseau est plus serré et donne des plages qui apparaissent plus chromatiques que le reste du noyau. Le nombre de chromosomes de ce genre n'avait, à notre connaissance, jamais été compté. Nous avons compté 14 chromosomes dans les plaques équatoriales (fig. 11).

Ornithopus sativus Brot. — Le nombre de chromosomes s'élève à 16 dans cette espèce (KAWAKAMI, 1930). Le noyau quiescent montre un réticulum fin et régulier avec parfois des chromocentres de petite taille. Souvent une ou deux granulations de chromatine sont fixées sur le nucléole (fig. 39, pl. XIII).

SOUS-TRIBU b : Euhedysarinae.

nombre de genres : 8, étudiés : 2.

Hedysarum obscurum L. ($2n = 14$) (fig. 40, pl. XIII).

Onobrychis Caput Galli Lam. ($2n = 14$) SENN, 1938 (fig. 41, pl. XIII).

— Nous présentons ensemble ces deux espèces car leurs structures nucléaires sont en tout point semblables. Le noyau quiescent offre

un fin réticulum régulier avec des chromocentres assez petits. Il y a un seul nucléole.

SOUS-TRIBU c : *Aeschynomeneinae*, non étudiée.

SOUS-TRIBU d : *Stylosanthinae*, non étudiée.

SOUS-TRIBU e : *Patagoniinae*, non étudiée.

SOUS-TRIBU f : *Desmodiinae*, non étudiée.

Toutes les espèces d'Hédysarées que nous avons étudiées présentent, au point de vue nucléaire, des organisations analogues: réticulum fin et régulier portant un plus ou moins grand nombre de chromocentres.

Cette structure nucléaire des Hédysarées est comparable à celle que nous avons décrite chez les Lotées.

TRIBU 8 : *Dalbergieae* : non étudiée.

TRIBU 9 : *Vicieae*.

nombre de genres : 6; étudiés : 6.

Cicer arietinum L. — La mitose somatique du *Cicer arietinum* a été étudiée par DOMBROVOSKY-SLUDSKY (1927), malheureusement nous n'avons pas pu nous procurer son Mémoire. Le nombre de chromosomes est de $2n = 14$.

Dans le noyau quiescent, on voit un réseau coloré en rose par le Feulgen, portant des chromocentres de formes variées : ovoïdes, vaguement quadrangulaires, ou étoilés (fig. 42 et 43, pl. XII). Ils sont le plus souvent au nombre d'une douzaine, parfois beaucoup moins (7, 8) ou plus. Il serait intéressant de savoir si ce nombre est égal à celui des chromosomes. Il est souvent voisin de 14, mais nous en avons parfois compté beaucoup plus (fig. 12). A la prophase, certains filaments deviennent plus chromatiques. Cette augmentation de chromaticité se fait d'abord au voisinage des chromocentres (fig. 44, 45, pl. XIII). On a ensuite un stade à longs filaments (fig. 46, pl. XIII) qui se régularisent et s'épaississent pour donner les chromosomes.

Les colorations à l'hématoxyline montrent un enchylème légèrement structuré portant des chromocentres, les filaments du réseau ne sont pas visibles (fig. 12).

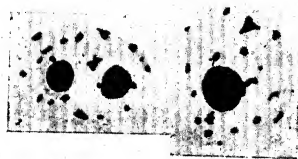


FIG. 12. — Noyaux quiescents de *Cicer arietinum* L., fixé au Helly, colorés à l'hématoxyline.

Vicia Faba L. — Cette espèce a été l'objet de nombreuses études de la part de divers cytologistes (LUNDERGÄRDH, 1910; SHARP, 1913; SAKAMURA, 1920; HEITZ, 1931; MARSHAK, 1936, etc...). Le nombre de chromosomes compté à diverses reprises est de 12. Le noyau quiescent (fig. 47, pl. XIII) présente un réseau coloré en violet intense par le Feulgen. Ce réseau porte quelques chromocentres, assez gros, surtout bien visibles dans les colorations à l'hématoxyline (fig. 1, b et d). Au début de la prophase, le noyau prend un aspect très granuleux, puis le réseau se coupe en bandes et filaments sinueux parallèles les uns des autres (fig. 48, pl. XIII). A la fin de la prophase les chromosomes formés sont allongés, épais et commencent à se fissurer (fig. 49, pl. XIII). Il y a le plus souvent deux nucléoles et quelquefois davantage. Ils disparaissent toujours au début de la métaphase.

Ervum Lens L. = *Lens esculenta* L. — Cette espèce a été étudiée par divers auteurs : HERTZ (1926-1927), TISCHLER, etc... Le nombre de chromosomes y est de 14. Le réticulum très chromatique y est moins régulier que dans *V. Faba*. Par endroit il devient beaucoup plus dense en donnant des plages colorées en violet foncé par le Feulgen (fig. 50, pl. XIII).

Lathyrus Cicera L. — Le nombre de chromosomes de cette espèce a été compté par SENN (1938), il s'élève à 14. Le noyau quiescent (fig. 51, pl. XIII) présente un fin réticulum très chromatique qui ressemble beaucoup à celui de *V. Faba*. Il y a toujours deux ou trois chromocentres très volumineux. A la prophase le noyau prend un aspect très granuleux (fig. 52, pl. XIII), on observe ensuite de larges filaments sinueux et granuleux qui donnent les chromosomes. A la fin de la prophase les chromosomes sont assez allongés et commencent à se fissurer.

Pisum sativum L. — Cette espèce a été elle aussi très étudiée surtout au point de vue de la structure des chromosomes (MARSHAK 1931, HERTZ 1925). Le nombre chromosomique est $2n = 14$. Le noyau quiescent (fig. 53, pl. XIII) présente un réticulum granuleux. Cet aspect granuleux s'accroît au début de la prophase, puis le réseau se coupe et, peu à peu, les chromosomes se forment. En fin de prophase ils commencent à se fissurer (fig. 54, pl. XIII). A la métaphase, on voit que deux d'entre eux sont pourvus d'un satellite. Le plus souvent il y a deux nucléoles, quelquefois un seul, parfois jusqu'à quatre ou cinq (fig. 53, pl. XIII).

Abrus precatorius L. — Le nombre de chromosomes comptés par SENN est de 22 (1938). Le noyau quiescent (fig. 55, 56, pl. XIII) montre un nucléoplasme dense, légèrement structuré, coloré en rose assez

vif par le Reulgen. Contre la membrane nucléaire et contre le nucléole, se trouvent fixées des granulations de chromatine, colorées en violet intense par la fuschine, qui sont le plus souvent de petite taille. A la prophase, à partir des chromocentres, on voit se former les chromosomes, tandis que l'enchylème se décolore (fig. 57, pl. XIII). Les préparations colorées à l'hématoxyline nous donnent la même structure.

Sur les six espèces de Viciées que nous avons étudiées, nous en avons trouvé quatre qui présentent une structure réticulo-granulée typique : *Vicia Faba*, *Pisum sativum*, *Ervum Lens*, *Lathyrus Cicera*. Du reste ces quatre genres constituent ce qu'on peut appeler les « vraies Viciées. »

La structure nucléaire de *Cicer arietinum* ne ressemble en rien à celle des « Viciées vraies » mais rappelle davantage celle des Trifoliées. POPOV (1928-1929), en se basant sur des données morphologiques et la distribution géographique, considère *Cicer* comme le résultat d'une hybridation entre *Ononis* et une vraie Viciée. Du reste, l'ensemble complexe résultant de cette supposée hybridation extrêmement ancienne, serait représenté aujourd'hui, non seulement par *Cicer* mais par certaines *Vicia* « ciceroides » (*V. Faba*, *V. ciceroides*, *V. subvillosa*). Mais si la structure de *V. Faba* est tout à fait comparable à celle de *Lathyrus* par exemple, il est certain que le noyau quiescent de *Cicer* ressemble davantage à celui d'*Ononis*, qu'à celui d'une Viciée vraie.

Envisageons maintenant le cas d'*Abrus* qui présente aussi une structure nucléaire tout à fait différente de celle des Viciées typiques. Ce genre a été longtemps considéré comme mal placé dans les Viciées. C'était notamment l'avis de STREICHER (1902). COMPTON (1912) indique qu'il doit être rattaché plutôt aux Phaséolées qu'aux Viciées, car *Abrus* a une racine à quatre faisceaux et une germination épigée, alors que les vraies Viciées ont une racine triarche et une germination hypogée, les Phaséolées ayant une racine à quatre faisceaux et une germination épigée ou hypogée. POPOV (1928-1929) conclut qu'*Abrus* doit être placé entre les Viciées et les Phaséolées. SENN (1938), trouve que le nombre des chromosomes d'*Abrus* est $2n = 22$, il remarque que le nombre $n = 11$ qui n'a jamais été trouvé dans une Viciée typique, est au contraire prédominant chez les Phaséolées, il rattache ce genre à cette dernière tribu. Il est certain d'autre part, que la structure nucléaire d'*Abrus* se rapproche assez de celle observée dans *Phaseolus*, malheureusement nous avons trop peu étudié les Phaséolées pour savoir si le noyau à prochromosomes est souvent rencontré dans de nombreux genres de cette tribu.

TRIBU 10 : Phaseoleae.

nombre de genres 61; étudiés : 2.

SOUS-TRIBU a : Glycininae.

nombre de genres : 12; étudié : 1.

Glycine Soja Sieb. — Le nombre de chromosomes est de $2n = 40$ (FUKUDA, 1933). Le noyau quiescent présente un nucléoplasme presque homogène, coloré en rose par la méthode de Feulgen et contenant généralement un seul nucléole. Contre la membrane nucléaire sont fixés des chromocentres ovoïdes le plus souvent, mais parfois, quelques-uns sont porteur d'une constriction centrale (fig. 58, pl. XIII). A la prophase ces chromocentres s'allongent, la partie centrale restant d'abord plus chromatique que les extrémités; en même temps le nucléoplasme se décolore (fig. 59, pl. XIII). A la fin de la prophase les chromosomes, complètement chromatiques, ont des formes en bâtonnets ou arcs (fig. 60, pl. XIII). Dans les noyaux des cellules plus âgées le nombre des prochromosomes semble diminuer de façon notable (fig. 61, pl. XIII); ils se déchromatinisent peu à peu.

SOUS-TRIBU b : *Erythrinae*, non étudiée.

SOUS-TRIBU c : *Galactiinae*, non étudiée.

SOUS-TRIBU d : *Diocleinae*, non étudiée.

SOUS-TRIBU e : *Cajaninae*, non étudiée.

SOUS-TRIBU f : Phaseolinae.

nombre de genres : 8; étudié : 1.

Phaseolus vulgaris L. — Ce genre a été étudié à plusieurs reprises : par MARTINS MANO (1926), DANGEARD (1937), EICHHORN (1938).

Le nombre des chromosomes est de $2n = 22$. Le nucléoplasme des noyaux quiescents apparaît presque homogène contenant généralement un seul nucléole (fig. 62, 63, pl. XIII). Contre la membrane nucléaire sont accolés des chromocentres, assez petits et très chromatiques. Souvent un ou plusieurs sont fixés sur le nucléole. A la prophase les chromocentres s'allongent et prennent la forme de bâtonnets tandis que le nucléoplasme se décolore (fig. 64, pl. XIII). Dans les noyaux du méristème les prochromosomes sont au nombre d'une vingtaine, et, ce nombre ne semble pas diminuer sensiblement dans les cellules plus âgées. DANGEARD range le noyau de *Phaseolus* dans les types « presque homogènes avec quelques chromocentres », il nous semble plutôt appartenir au type à prochromosomes : en effet dans le noyau interphasique le nombre des chromocentres est toujours voisin de 22, le plus souvent légèrement inférieur, et l'évolution prophasique est la même que celle décrite chez le Lupin, par exemple.

Les colorations à l'hématoxyline nous ont permis de voir, ainsi que l'ont déjà signalé quelques auteurs, que dans cette espèce le nucléole ne disparaît pas toujours à la métaphase. Nous l'avons sou-



FIG. 13. — *Phaseolus vulgaris* L. Evolution du nucléole pendant la mitose.

vent vu se diriger vers l'un des pôles du fuseau (fig. 13). Nous n'avons pas constaté la présence de micronucléole.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Nous rappellerons d'abord quels sont les différents types de structure nucléaire rencontrés dans cette étude; puis nous envisagerons quels renseignements on peut en tirer pour la connaissance systématique des Légumineuses, et aussi pour la connaissance de l'organisation nucléaire. Aux considérations qui vont suivre, nous n'accordons pas un caractère définitif : cette étude n'a pas été basée sur l'observation vitale et nous ne méconnaissons pas que des doutes peuvent exister sur le caractère naturel de certains des détails morphologiques précédemment décrits. D'autre part, nos investigations n'ont pas porté sur tous les groupes de Légumineuses : de nombreuses sections n'ont pas été étudiées. Cependant, s'il n'est pas douteux que des recherches ultérieures conduiront à rectifier nos descriptions sur certains points et à les compléter, il n'en est pas moins désormais sûr que des types nucléaires variés existent dans les divers groupes composant la famille des Légumineuses et sont plus ou moins caractéristiques de ces groupes; les considérations suivantes constituent, de ce point de vue général, un certain nombre de remarques et de suggestions nouvelles susceptibles de mettre en évidence l'existence de relations jusqu'à présent méconnues.

Les divers types de structures nucléaires chez les Légumineuses.

Au cours de cette étude nous avons rencontré de nombreux types d'architecture nucléaire qui souvent étaient constants pour les différents genres d'une même section. Nous pouvons résumer les résultats obtenus dans le tableau suivant :

Viciées (vraies).....	Réseau dense et régulier.
Lotées.....	Réseau moins dense et moins régulier, assez fin.
Hédysarées.....	Réseau léger, assez fin.
Trifoliées.....	Réseau très lâche et très léger, chromocentres volumineux.
Sophorées.....	Réseau lâche et léger, chromocentres petits.
Galégées.....	Réseau variable (groupe de transition).
Génistées (vraies), Phaséolées.....	Réseau nul.
Caesalpinoïdées et Mimosoïdées.....	Réseau nul.

Longs

Chromosomes

Courts

En général : chromocentres plus ou moins volumineux et plus ou moins nombreux,

En résumé, Viciées, Lotées, Hédysarées, Trifoliées, Sophorées et Galégées offrent divers types de noyaux réticulés, Génistées, Phaséolées, Césalpinoïdées et Mimosoïdées des noyaux à prochromosomes (à euchromocentres).

Types de structure nucléaire et systématique des Légumineuses.

Quelques conséquences systématiques. — Il semble que notre étude puisse nous permettre de préciser la place de certains genres à affinités systématiques incertaines qui ont été placés dans des sections différentes suivant les systématiciens (1).

C'est notamment le cas du genre *Abrus* tantôt placé dans les Viciées, tantôt rattaché aux Phaséolées ou placé entre les deux tribus. Caryologiquement, *Abrus* se rapproche davantage des Phaséolées comme l'a montré SENN : le nombre chromosomique de ce genre est en effet de $n = 11$, ce qui est un nombre de Phaséolées jamais rencontré chez les Viciées vraies. Nous avons vu que la structure nucléaire observée chez *Abrus precatorius* L. est nettement différente de celle des Viciées typiques, et qu'au contraire c'est une structure à prochromosomes comme celle des Phaséolées que nous avons étudiées. Il nous semble qu'on peut conclure qu'*Abrus* se rattache à la tribu des Phaséolées.

Nous avons vu que le noyau quiescent de *Cicer arietinum* L. présente une structure nucléaire très différente de celle des Viciées typiques.

(1) « Ne peut-on pas supposer que l'étude des différents types de noyaux est appelée à jeter un jour nouveau sur la classification comme sur l'origine des espèces végétales ? » A cette question, posée par G. ARCHAMBAULT à la fin d'un récent Mémoire (1938-39), nous croyons que l'on pourra répondre affirmativement.

Nous avons déjà expliqué que POPOV considère ce genre comme résultant d'une hybridation entre une Viciée typique et *Ononis*. On ne peut dire si cette hybridation est réelle mais on ne peut que constater la prédominance du type caryologique des Trifoliées dans ce noyau. Donc *Cicer* s'éloigne, par sa structure nucléaire des Viciées typiques et se rapproche davantage du genre *Ononis* et des Trifoliées.

Envisageons maintenant le cas de *Crotalaria* qui, par sa structure nucléaire et son nombre chromosomique (SENN), s'écarte des autres Génistées (Spartiniées et Cytisinées). Ce genre a une place à part dans la tribu car on le considère comme un représentant des plus anciennes Génistées alors que les autres genres sont relativement récents. C'est en quelque sorte, du point de vue nucléaire, une « fausse Génistée » ; la concordance entre nos constatations et celles des systématiciens est remarquable.

Structure nucléaire et phylogénie des Légumineuses. — Certains auteurs (GAMS, TISCHLER, SENN) ont proposé des tableaux indiquant des relations phylétiques supposées entre les diverses tribus des Légumineuses.

Le tableau phylétique de GAMS, (1926) est basé sur les ressemblances morphologiques et systématiques des groupes (fig. 14).

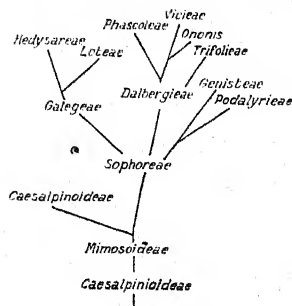


FIG. 14. — Tableau phylogénétique des Légumineuses, d'après GAMS.

Celui de TISCHLER (1929) a été fait suivant des données caryologiques : il est basé sur le nombre de chromosomes dans les différentes tribus (fig. 15).

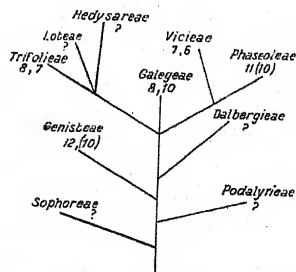


FIG. 15. — Tableau phylogénétique des Légumineuses, d'après TISCHLER.

Le schéma de SENN (fig. 16) est basé sur les relations morphologiques et chromosomiques des diverses tribus. La parenté morphologique entre les Caesalpinoïdées, les Mimosoïdées et les Papilionacées est certaine, mais leurs relations chromosomiques ne sont pas nettes. Les

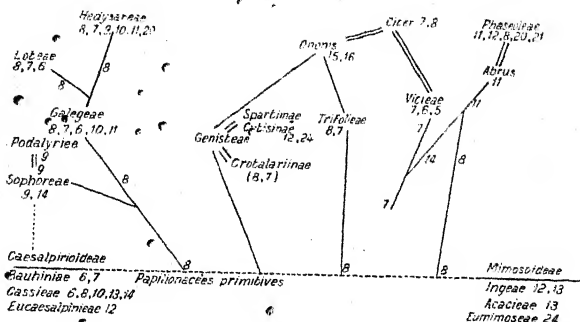


FIG. 16. — Tableau phylogénétique des Légumineuses, d'après SENN.

relations entre Phaséolées et Viciées indiquées sur le tableau sont très hypothétiques.

Si nous considérons l'ensemble de ces schémas nous voyons que les Légumineuses arborescentes : Mimosoïdées et Césalpiniées sont considérées comme primitives; or leur noyau est le plus souvent d'un

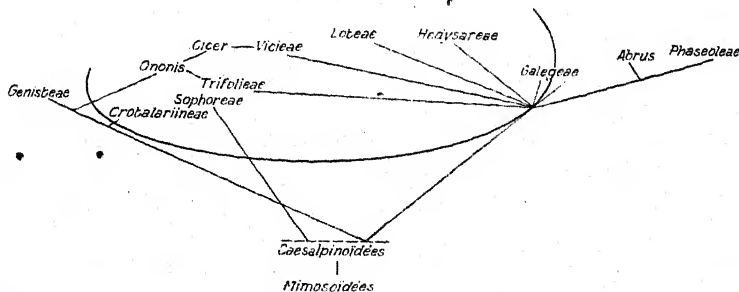


FIG. 17. — Tableau phylogénétique des Légumineuses, montrant la répartition, dans l'ensemble de cette famille, des groupes possédant des noyaux à euchromocentres (du côté convexe de la courbe) et des noyaux réticulés (du côté concave) : possèdent des noyaux réticulés la plupart des tribus considérées comme récentes et aussi certains genres dérivés latéralement de tribus à noyaux sans réseau (*Crotalaria*); la plupart des groupes considérés comme anciens et, en outre, deux tribus d'origine plus récente (Génistées et Phaséolées) offrent des noyaux à euchromocentres.

type euchromocentrique, à chromosomes courts. Les Viciées, Hédysarées et Lotées à noyaux typiquement réticulés et à chromosomes longs sont au contraire toujours considérées comme évoluées.

TISCHER fait dériver d'un rameau donnant les Galégées toutes les autres tribus des Papilionacées. Comme on trouve chez les Galégées toutes sortes de types intermédiaires on peut en faire une sorte de « plaque tournante » et en faire dériver divers autres types nucléaires.

Les Galégées seraient assez primitives, d'après GAMS et SENN qui en font dériver les Hédysarées et les Lotées.

Compte tenu de ces divers points de vue, nous avons construit la figure 17 : elle montre la répartition des deux principaux types de noyaux quiescents dans la plupart des grands groupes de Légumineuses, distribués d'après leurs rapports phylogénétiques les plus généralement admis et rectifiés, sur certains points, à la suite de nos recherches.

Les noyaux des Légumineuses et les divers types nucléaires.

Nos recherches nous ont révélé qu'existent, chez les Légumineuses, des types nucléaires très variés : noyaux à prochromosomes, d'une part, noyaux réticulés, d'autre part, ceux-ci présentant des réseaux d'aspects extrêmement divers. Nous examinerons ici ces résultats à la lumière de récents travaux sur les divers types structuraux du noyau quiescent (EICHORN, P. DANGEARD, HEITZ).

D'après EICHORN (1934, 1938), on peut distinguer deux grands groupes de structure nucléaire, dont chacun présente plusieurs variantes de telle sorte qu'il existe, entre les types les plus différents, des intermédiaires :

Noyaux réticulés (réticulo-granuleux)	{ sans chromocentres (type <i>Hyacinthus</i>),
	{ avec chromocentres (type <i>Vicia-Pinus</i>),
Noyaux sans réseau	{ avec chromocentres (type <i>Falshedra</i>),
	{ avec euchromocentres (type <i>Acacia</i>),
	{ avec prochromosomes (type <i>Begonia</i>).

Du type *Hyacinthus* au type *Begonia*, on assiste d'abord à l'apparition de chromocentres, puis à la concentration, de plus en plus complète, à leur niveau, de la chromatine nucléaire et à la régularisation de leur nombre. Nos recherches nous permettent de penser que cet essai de classification paraît correspondre à la plupart des cas actuellement connus. Du point de vue particulier des Légumineuses, les noyaux quiescents appartiennent, d'une part au type *Acacia* (noyaux à euchromocentres), d'autre part au type *Vicia-Pinus*; mais l'étude de ces noyaux réticulés avec chromocentres des Légumineuses nous permet d'y discerner de nombreuses modalités différentes, suivant que le réseau est très développé (sous-type *Vicia*) ou à peine marqué (sous-type *Cicer*), divers intermédiaires existant entre ces

extrêmes. De plus, les noyaux de *Ceratonia*, avec réseau extrêmement léger presque dépourvu de chromocentres, ne peuvent être exactement classés dans aucun des types précités : peut-être pourrait-on les rapprocher du type *Hyacinthus* dont ils représenteraient un sous-type caractérisé par l'extrême atténuation du réseau. D'ailleurs, en dehors de la famille des Légumineuses, on connaît des noyaux de type aberrant, tel que celui du *Victoria regia*, décrit, pour la première fois, par HEITZ, puis interprété par ARCHAMBAULT. De nouvelles recherches permettront sans doute de préciser et de compléter le schéma provisoire que l'on peut dégager des travaux d'EICHHORN.

Le Mémoire de P. DANGEARD (1937) est quelque peu confus pour deux raisons : d'une part, l'illustration, cependant abondante, n'est pas extrêmement claire; d'autre part, les différentes descriptions ne sont pas toujours comparables; ainsi, dans deux cas qui nous intéressent particulièrement (*Phaseolus* et *Lupinus*), l'auteur insiste surtout, dans le premier cas (*Phaseolus*), sur les noyaux fixés par le Bouin et colorés par l'hématoxyline, dans le second cas (*Lupinus*) sur les noyaux fixés par le Helly et colorés par la méthode de Feulgen (1). Le lecteur est donc quelque peu désorienté. Aussi, nous ne croyons pas qu'il convienne de classer, comme le fait P. DANGEARD, dans deux types caryologiques différents, le noyau du Haricot et celui du Lupin; l'auteur ne précise d'ailleurs pas très clairement les raisons qui l'ont conduit à cette distinction : chez *Phaseolus* « on voit très bien comment les chromosomes s'édifient à partir des chromocentres qui apparaissent prolongés par des filaments peu chromatiques » (Benda-Meves et Feulgen); chez *Lupinus*, « la prophase est marquée très nettement par un allongement des chromocentres qui se transforment en bâtonnets courbés et qui se montrent très visiblement prolongés à leurs deux extrémités par des filaments peu chromatiques » (Helly et Feulgen). Ces deux extraits du texte de DANGEARD ne peuvent que nous confirmer, dans la conclusion à laquelle nous ont conduit nos observations, suivant laquelle les noyaux des Phaséolées et des Génistées appartiennent sensiblement au même type caryologique (2). De même, nous ne pouvons pas suivre P. DANGEARD lorsqu'il émet l'opinion

(1) P. DANGEARD critique la méthode de Feulgen et, notamment, objecte, contre sa spécificité, le fait que les « plastes se colorent fortement en rouge, comme la chromatine »; mais l'auteur ne précise pas si cette coloration des plastes a lieu, ou n'a pas lieu, *sans hydrolyse préalable*. Or, il est bien connu que la méthode de Feulgen colore, non seulement la chromatine, mais encore d'autres éléments cellulaires : inclusions lipidiques, lignine, etc...; seulement, les inclusions lipidiques, et la lignine sont colorées, *sans hydrolyse préalable*; tandis que la chromatine est teinte exclusivement après hydrolyse.

(2) En lisant attentivement le Mémoire de DANGEARD, on comprend que l'auteur admet, pour les chromosomes du Haricot, une origine double : certains naîtraient à partir des chromocentres, d'autres à partir de la chromatine diffuse; au contraire, chez le Lupin, ils naîtraient tous à partir des chromocentres. Nous ne sommes, pas plus qu'EICHHORN (1838) en mesure de confirmer cette distinction.

que les noyaux à euchromocentres (ou à prochromosomes) sont « presque toujours, sinon toujours, d'une structure très finement réticulée - granuleuse » : nous n'avons jamais rien observé de tel.

HEITZ a consacré, à l'étude du noyau quiescent, des recherches dont l'intérêt est, pour nous, d'autant plus grand qu'elles concernent, en partie, des Légumineuses; elles montrent que des différences sensibles pourraient exister dans la structure du noyau quiescent, suivant les espèces : huit espèces de *Vicia* étudiées présentent, ainsi, chacune, un noyau de structure particulière, caractérisé par le nombre et la disposition des chromocentres; la fixité du nombre et de la disposition des chromocentres est expliquée, suivant HEITZ, par le fait que ces corpuscules sont des parties hétérochromatiques (cf. p. 183) des chromosomes; le nombre et la localisation, dans les chromosomes, de ces territoires hétérochromatiques varient suivant les espèces; or, les chromosomes sont toujours agencés de la même manière, à la télophase; par conséquent, dans les noyaux-fils, les chromocentres, vestiges des chromosomes, subsistent, toujours au même endroit, sur l'emplacement de ceux-ci.

Nous remarquerons d'abord que les notions d'hétérochromatine et d'euchromatine dépendent, avant tout, de la technique de coloration employée : ainsi, un noyau quiescent de *Vicia Faba*, coloré par la méthode microchimique de Feulgen, présente un réseau et des chromocentres dont la réaction est identique; on ne peut en aucune manière, par cette méthode précise et bien connue, distinguer l'euchromatine de l'hétérochromatine; — par contre, ce même noyau de *Vicia Faba*, coloré par l'hématoxyline ferrique présente, dans les préparations convenablement régressées, les chromocentres hétérochromatiques, seuls colorés, tels que les figure HEITZ. La distinction entre euchromatine et hétérochromatine est donc purement empirique : elle ne correspond pas nécessairement à des différences d'ordre chimique et traduit peut-être un état physique particulier de certaines fractions de la chromatine.

Reste à savoir si cette particularité locale de la chromatine est vraiment bien caractéristique de tel ou tel point précis de tel chromosome et ne peut donc être retrouvée, à l'intérieur du noyau quiescent, qu'à des endroits déterminés et en nombre déterminé, ces caractères variant avec les espèces. A la vérité, nous n'avons pas repris, dans le détail, les observations de HEITZ; en particulier, nous n'avons étudié qu'une espèce de *Vicia* (*V. Faba*). Nous ne formulerons donc pas ici de conclusion catégorique; nous nous permettrons seulement de reproduire le dessin ci-contre (fig. 18).

On n'y discerne aucune répartition régulière des chromocentres; nous avons, certes, bien observé certains noyaux présentant le mode de distribution des chromocentres indiqué par HEITZ; mais il nous a semblé qu'il s'agissait là de cas particuliers. Nous ne sommes donc

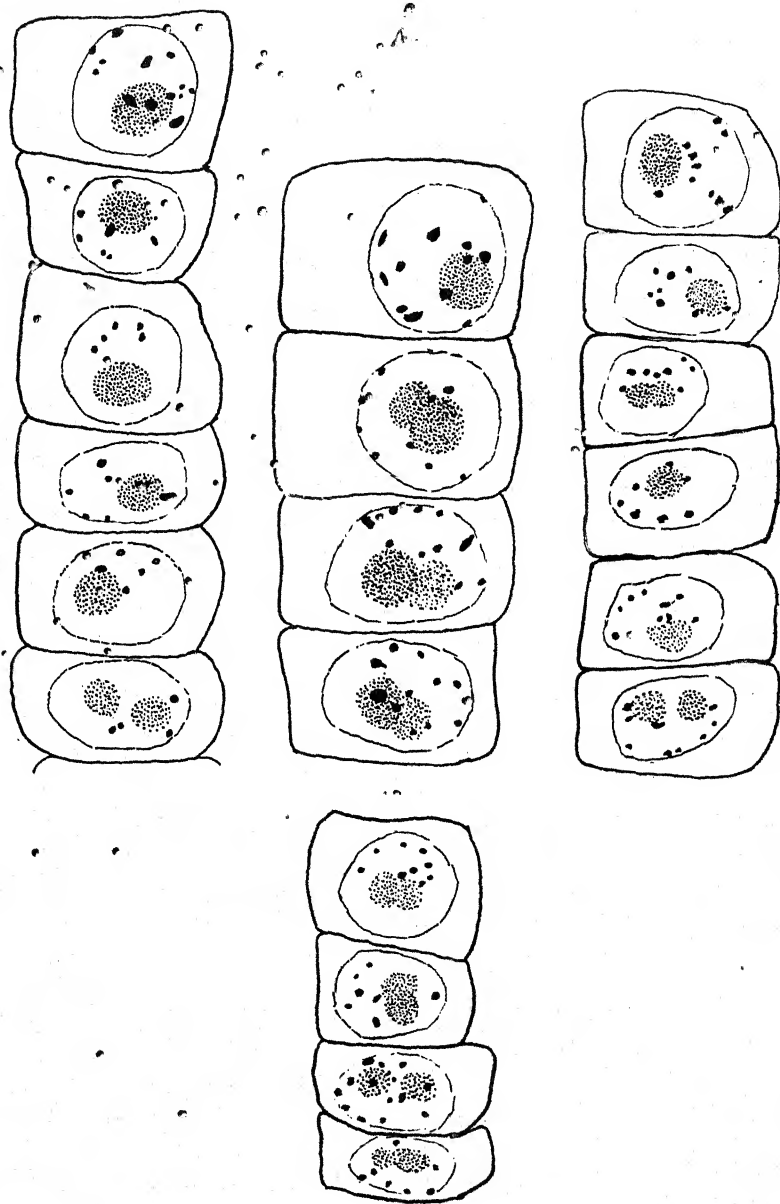


FIG. 18. — Disposition des chromocentres dans quelques cellules d'un méristème racinaire de *Vicia Faba* (fixation : Navachine; coloration : hématoxyline au fer).

pas convaincue de la justesse des descriptions de HEITZ. De plus amples informations nous permettront, plus tard, soit de maintenir notre attitude de doute, soit de nous rallier aux vues de ce savant.

CONCLUSIONS

Nous avons pu montrer, surtout grâce à la méthode de Feulgen, que, dans la famille des Légumineuses, la structure nucléaire varie, dans une large mesure, suivant les sous-familles ou tribus : d'où la possibilité d'obtenir des renseignements sur la position systématique discutée de certains genres (*Abrus*, *Cicer*, *Crotalaria*).

Au cours de cette étude, nous avons rencontré de nombreux intermédiaires entre les deux grands types structuraux de noyaux au repos : noyaux réticulés typiques et noyaux à prochromosomes ou à euchromocentres.

Nous avons déterminé le nombre chromosomique des espèces suivantes :

Ceratonia Siliqua L. : $2n = 22$,

Hippocrepis unisiliquosa L. $2n = 14$,

Coronilla viminalis L. : $2n = 12$.

BIBLIOGRAPHIE

- ARCHAMBAULT (G.). — La mitose somatique du *Victoria regia*. *Rev. de Cyt. et de Cytophysiol. végét.*, 3, 142-152, 1938-39.
- CAMP (C. Van). — Le rôle du nucléole dans la caryocinèse somatique. *La Cellule*, 34, 5, 1924.
- CAPITAINE (L.). — Etude analytique et phytogéographique du groupe des Légumineuses. *Paris*, 1912.
- Id. — Les graines des Légumineuses. *Paris*, 1912.
- CLARKE (A. F.). — Some cytological and genetical studies in the genus *Melilotus*. *Proc. Sixth. Cong. Genetics*, 2, 20-21, 1932.
- Id. — The number and morphology of chromosomes in the genus *Melilotus*. *Univ. Calif. Pub. Bot.*, 17 : 435-444, 1934.
- COMPTON (R. H.). — An investigation of the seedling structure in the Leguminosae. *Journ. Linn. Soc. Bot.*, 41, 1-122, 1912.
- COOPER (D. C.). — Chromosome numbers in the Leguminosae. *Amer. Journ. Bot.*, 23, 231-233, 1935.
- DANGEARD (P.). — Sur le bourgeonnement des nucléoles observé chez le *Lathraea Clandestina* et chez quelques plantes à prochromosomes. *C. R. de Ac. des Sc.*, 198, 1629, 1934.
- Id. — Les chromocentres du noyau et leurs relations avec les nucléoles. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 117, 375, 1934.
- Id. — Sur la structure et l'évolution des noyaux à chromocentres. *C. R. Acad. Sc.*, 199, 1444, 1934.
- Id. — Sur la structure de quelques noyaux quiescents. *C. R. Ac. des Sc.*, 200, 771-773, *Paris*, 1935.
- Id. — Recherches sur la structure des noyaux chez quelques Angiospermes. *Le Botaniste. série* 28, 292-400, 1937.
- DOMBROWSKY-SLUDSKY (L.). — La cinèse somatique de *Cicer arietinum* L., Sommaire français, *Journ. Soc. Bot., Russie*, 12, 163-172, 1927.
- DOUTRELIGNE (J.). — Chromosomes et nucléoles dans les noyaux du type euchromocentrique. *La Cellule*, 42, 31, 1933.
- EFTIMIU-HEIM (M^{me}). — Micronucléole et caryocinèse des Cucurbitacées. *Le Botaniste. Série* 28, 1937.
- EICHHORN (A.). — Sur la notion de prochromosomes et de chromocentres. *C. R. de la Soc. Biol.*, 104, 354, 1930.
- Id. — Aperçus sur le noyau à l'état quiescent. *Rev. Gén. de Bot.*, 92, 449, 1930.

- EICHHORN (A.). — Recherches caryologiques chez les Angiospermes et les Gymnospermes. *Arch. de Bot.*, 5, 1190, 1931.
- ID. — Observations vitales sur les noyaux à structure non réticulée. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 112, 1625, 1933.
- ID. — Le noyau et sa division chez le Lupin. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 125, 1064, 1934.
- ID. — Types définis et types intermédiaires dans la mitose des végétaux. *Cytologia*, 5, 253-263, 1934.
- ID. — Nouvelle contribution à l'étude des végétaux à prochromosomes et à chromocentres. *Rev. de Cytol. et de Cytophys.*, 2, 150, 1935.
- ID. — Numération chromosomique et étude de la mitose chez deux *Crotalaria*. *C. R. Ac. Sc.*, 204, 1669, 1937.
- ID. — Etude caryologique de trois espèces d'*Acacia*. *Rev. de Cytol. et de Cytophys. vég.*, 3, fasc. 1, 1938.
- ID. — Etude caryologique de quelques *Phaseolus*. *C. R. Ac. Sc.*, 206, 1188, 1938.
- EICHHORN (A.) et FRANQUET (R.). — La mitose somatique des Cucurbitacées. Contribution à la connaissance des noyaux porteurs de prochromosomes. *Arch. du Museum*, 6^e s., 204-224, 1931.
- ID. — A propos de la réaction nucléaire de Feulgen. *C. R. Soc. Biol.*, 118, 326, 1934.
- ENGLER (A.) et PRANTL (K.). — Die natürlichen Pflanzenfamilien. Teil 3. Abt. 3. Leipzig, 1894.
- FRYER (J. R.). — Cytological studies on *Medicago*, *Melilotus*, and *Trigonella*. *Can. Journ. Res.* 3, 3-50, 1930.
- FRASER (H. CI) and I. SNELL. — The vegetative division in *Vicia Faba*. *Ann. Bot.*, 25, 845-855, 1911.
- GAMS (H.). — Leguminosae in *Hegi's Illustrierte Flora von Mitteleuropa*. 4, Munich, 1926.
- GAVAUDAN (P.). — Sur le devenir du nucléole pendant la caryocinèse et sur ses rapports généraux avec la chromatine thymonucléique. *C. R. Acad. Sc.*, 204, 1937.
- GAVAUDAN (P.) et YU (Chih.-Chen). — Quelques remarques sur la caryocinèse somatique chez le *Phaseolus vulgaris* étudiée dans le méristème radiculaire. *Bull. Soc. Bot.*, 82, 3-10, 1935.
- ID. — Centrosomes et extrusions chromatiques chez les Angiospermes. *Actualités Scientif. et Industr.*, Hermann et Cie, Paris, 1936.
- GAVAUDAN (Pierre), GAVAUDAN (Noélie) et PELLETIER (Marcel). — Sur l'évolution et la signification des appareils nucléolaires dans la caryocinèse somatique de quelques Angiospermes. *C. R. Ac. Sc.*, 200, 575, 1935.
- GHIMPU (V.). — Contribution à l'étude chromosomique des *Acacia*. *C. R. Acad. Sci.*, 188, 1429-1431, 1929.
- ID. — Contribution à l'étude caryologique du genre *Medicago*. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*, 187, 245-247, 1928.
- GRÉGOIRE (V.). — Euchromocentres et chromosomes dans les végétaux. *Bull. Ac. r. de Belgique. Cl. Sciences*. 5^e série, 17, 1435-1449, 1931.

GUILLIERMOND (A.). — Recherches ultramicroscopiques sur les cellules végétales et l'état physique des constituants morphologiques de la cellule. *Rev. Gén. Bot.*, **42**, 1930.

ID. — Quelques remarques sur les noyaux porteurs de prochromosomes : le noyau de Courge et processus de sa division. *Vol. Jubilaire Maurice Caullery*, Paris, 1938.

GUILLIERMOND (A.) et GAUTHERET (R.). — Contribution à l'étude de la structure du noyau dans les cellules végétales. Noyaux à réticulum chromatique et noyaux à prochromosomes. *Rev. de Cytologie et de Cytophysiologie végétales*, **2**, 354-375, 1937.

GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — Traité de Cytologie végétale. *Le François*, édit. Paris, 1933.

HEITZ (É.). — Nukleolen und Chromosomen in der Gattung *Vicia*. *Planta*, **15**, 495-505, 1931.

ID. — Die Herkunft der Chromocentren. *Planta*, **18**, 571, 1933.

HUREL-PY (M^{me} G.). — Les réactions de Feulgen sur la cellule végétale. *Rev. de Cytologie et de Cytophysiologie végétales*, **2**, fasc. 1, 67-76, 1936.

HUSTED (L.). — Cytological studies on the Peanut, *Arachis*. I. Chromosome number and morphology. *Cytologia*, **5**, 109-117, 1931.

ISHIKAWA (M.). — A list of number of chromosomes. *Bot. Mag. Tokyo*, **30**, 404-448, 1916.

JIMBO (F.). — The Chromosomes of *Wistaria*. *Bot. Mag. Tokyo*, **41**, 487-489, 1927.

KARPECHENKO (G. D.). — Karyologische Studien über die Gattung *Trifolium* L. *Bull. Appl. Bot. Pl. Breed.*, **14**, 271-279, 1924-1925.

ID. — On the chromosomes of *Phaseolinae*. *Bull. Appl. Bot. and Pl. Breed*, **14**, 143-148, 1925.

KARVAKAMI (J.). — Chromosome members in *Leguminosae*. *Bot. Mag. Tokyo*, **44**, 319-328, 1930.

KREUTER (E.). — Chromosomen-studien bei den Galegeen. *Ber der deutsch. bot. Gesell*, **47**, 99-101, 1929.

ID. — Beitrag zur karyologisch-systematischen Studien an Galegeen. *Plant. Arch. Wiss. Bot.*, **11**, 1-44, 1930.

LITARDIÈRE (R. DE). — Observations relatives au cycle du nucléole dans la caryocinèse somatique. *C. R. Acad. Sc.*, **200**, 341, 1935.

ID. — Recherches sur l'élément chromosomique dans la caryocinèse somatique des Filicinées. *La Cellule*, **31**, 253-473, 1921.

LUNDEGARDH (H.). — Über Kernteilung in den Wurzelspitzen von *Allium Cepa* und *Vicia Faba*. *Svensk. Bot. Tids*, **4**, 174-196, 1910.

MARSHAK (A. G.). — The morphology of the chromosome of *Pisum sativum*. *Cytologia*, **2**, 318-339, 1931.

MARTENS (P.). — La structure vitale du noyau et l'action des fixateurs. *C. R. Ac. Sc.*, **184**, 615, 1927.

ID. — Recherches expérimentales sur la cinèse dans la cellule vivante. *La Cellule*, **34**, 69, 1929.

- MARTENS (P.). — Nouvelles recherches expérimentales sur la cinèse dans la cellule vivante. *La Cellule*, **38**, 69, 1929.
- MARTENS (P.) et CHAMBERS (R.). — Etudes de microdissection. Les poils staminaux des *Tradescantia*. *La Cellule*, **41**, 133, 1932.
- MARTINS-MANO (Th.). — Nucléole et chromosomes dans le méristème radicaire de *Solanum tuberosum* et *Phaseolus vulgaris*. *La Cellule*, **22**, 55-78, 1905.
- MASCRÉ (M.). — Action de quelques fixateurs sur le noyau de la cellule végétale. *C. R. Ac. Sc.*, **185**, 1505, 1927.
- MENSIKAI (S.-W.). — The structure and behaviour of chromosomes in somatic mitoses. *Journ. of the Roy. microsc. Soc., Ser. III*, **59**, 82-112, 1939.
- MILOYIDOV (P.). — La constitution chimique et physico-chimique du noyau cellulaire. *Praha*, 1936.
- NOEL (R.) et MANGENOT (G.). — Le formol fixateur nucléaire. *C. R. Soc. de Biol.*, **87**, 1130, 1922.
- POPOV (M. G.). — The genus *Cicer* and its species. *Bull. Appl. Bot. Genet. Pl. Breçd*, **21**, 3-329, 1928-1929.
- ROSCOE (M.). — Cytological studies in the Genus *Wisteria*. *Bot. Gaz*, **84**, n° 2, 171-186, 1927.
- SAKAMURA (T.). — Studien über die Kernteilung bei *Vicia Cracca* L., *Bot. Mag. Tokyo*, **28**, 131-147, 1914.
- ID. — Über die Einschnürung der Chromosomen bei *Vicia Faba* L. *Bot. Mag. Tokyo*, **29**, 287-300, 1915.
- SENJANINOVA. — Das Verhalten des Nucleolus und der Trabanten während der somatischen Mitosen und der Reifeteilung bei *Ranunculus acris*. *Zeit. f. Zellf. u. mikr. Anat.*, 416-430, 1926.
- SENN (H. A.). — A cytogenetic study of the genus *Lathyrus*. *Proc. Acad. Sci., Richmond*, **32**, 1935-1936.
- ID. — Chromosome number relationships in the Leguminosae. *Bibliographia Genetica*, **12**, 176-336, 1938.
- SCHÄDE (Reinhald). — Untersuchungen mit der Nuclealreaktion im Kern und Kernteilung. *Planta*, **26**, 167-192, 1937.
- SHARP (L. W.). — Somatic chromosomes in *Vicia*. *La Cellule*, **29**, 298, 1913.
- SMET (E. DE). — Chromosomes, prochromosomes et nucléole dans quelques Dicotylées. *La Cellule*, **29**, 335-377, 1914.
- STRASBURGER (E.). — Typische und allotypische Kernteilung. *Jahrb. f. wiss. Bot.* **42**, 1-71, 1905-06.
- ID. — Über die Individualität der Chromosomen und die Pfropfbriiden-Frage. *Jahrb. wiss. Bot.* **44**, 482-555, 1907.
- STREICHER (Otto). — Beiträge zur vergleichenden Anatomie der Viciaen. *Beih. Bot. Centralb.* **12**, 483-538, 1902.
- SUGIURA (T.). — A list of chromosome numbers in angiospermous plants. *Bot. Mag. Tokyo*, **45**, 353-355, 1931.
- TAUBERT (P.). — Leguminosae. In *Engler and Prantl's Die Natürlichen Pflanzenfamilien. Teil 3, Abt 3, Leipzig*, 1894.

- TISCHLER (G.). — Allgemeine Pflanzenkaryologie 9. Die Chromosomen und ihre Bedeutung für Stammes und Erblchkeitsforschung. *Linstauer's Handbuch der Pflanzenanatomie*, 2, 521-683, 1921-1922.
- ID. — Pflanzliche Chromosomen-zahlen. *Tabulae Biologicae Periodicae* 5, 6, *Nachtrag n° 2, Teil I Tabulae Biologicae*, 11-12, 1935-1936.
- TSCHECOW (W.). — Karyologisch-systematische Untersuchung des Tribus *Galegeae* Fam. Leguminosae. *Planta*, 9, 675-680, 1930.
- ID. — Karyologisch-systematische Untersuchung des Tribus *Sophoreae*, *Podalyrieae* und *Genisteae*. *Mitt. der Tomsk. Abt. der Russ. Bot. Ges.* 3, 121-131, 1921.
- TSCHECOW (W.) and N. KARTASCHOWA. — Karyologisch-systematische Untersuchung der Tribus *Loteae* und *Phaseoleae* Unterfam. *Papilionatae*. *Cytologia*: 3, 221-249, 1932.
- TUSCHNIAKOWA (M.). — Über die Chromosomen einiger *Lupinus* Arten. *Der Züchter*: 7, 169-174, 1935.
- WAGER (H.). — The nucleolus and nuclear division in the root-apex of *Phaseolus*. *Ann. of Bot.*, 18, 29-55, 1904.
- WEINSTEIN (A. J.). — Cytological studies on *Phaseolus vulgaris*. *Amer. Journ. Bot.*, 13, 248-263, 1926.
- YAMAZAKI (R.). — Chromosome numbers in some Angiosperms. *Jap. Journ. Genet.*, 12, 101-103, 1936.
- YU (Chih Chen). — Recherches sur quelques problèmes de la Caryocinèse des Angiospermes. *Thèse doct. de l'Université. Paris*, 1938.
- ZEEUW (J. DE). — Recherches sur les noyaux euchromocentriques et leur division (*Lupinus luteus* et *L. hirsutus*). *La Cellule*, 44, 389, 1936.

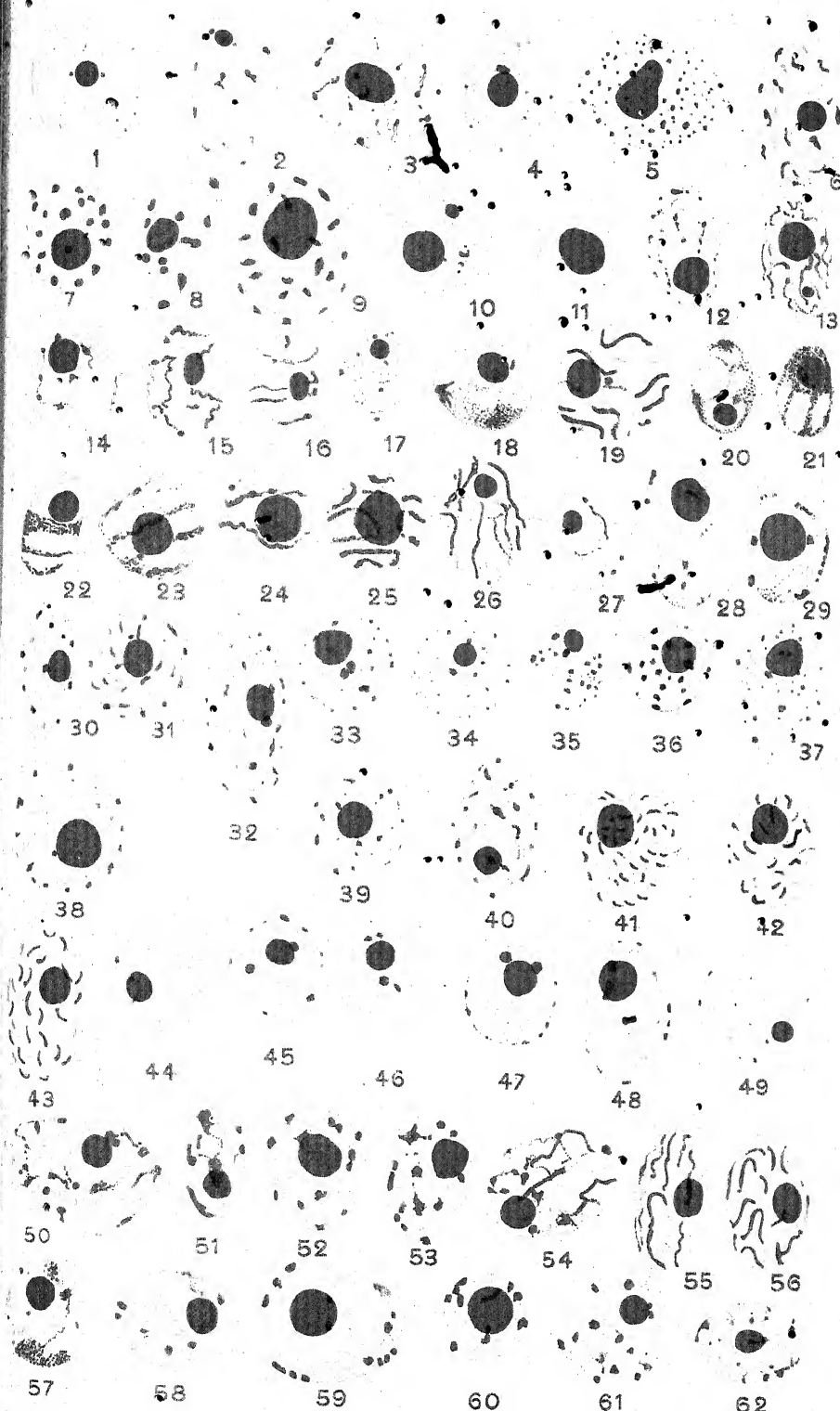
EXPLICATION DES PLANCHES

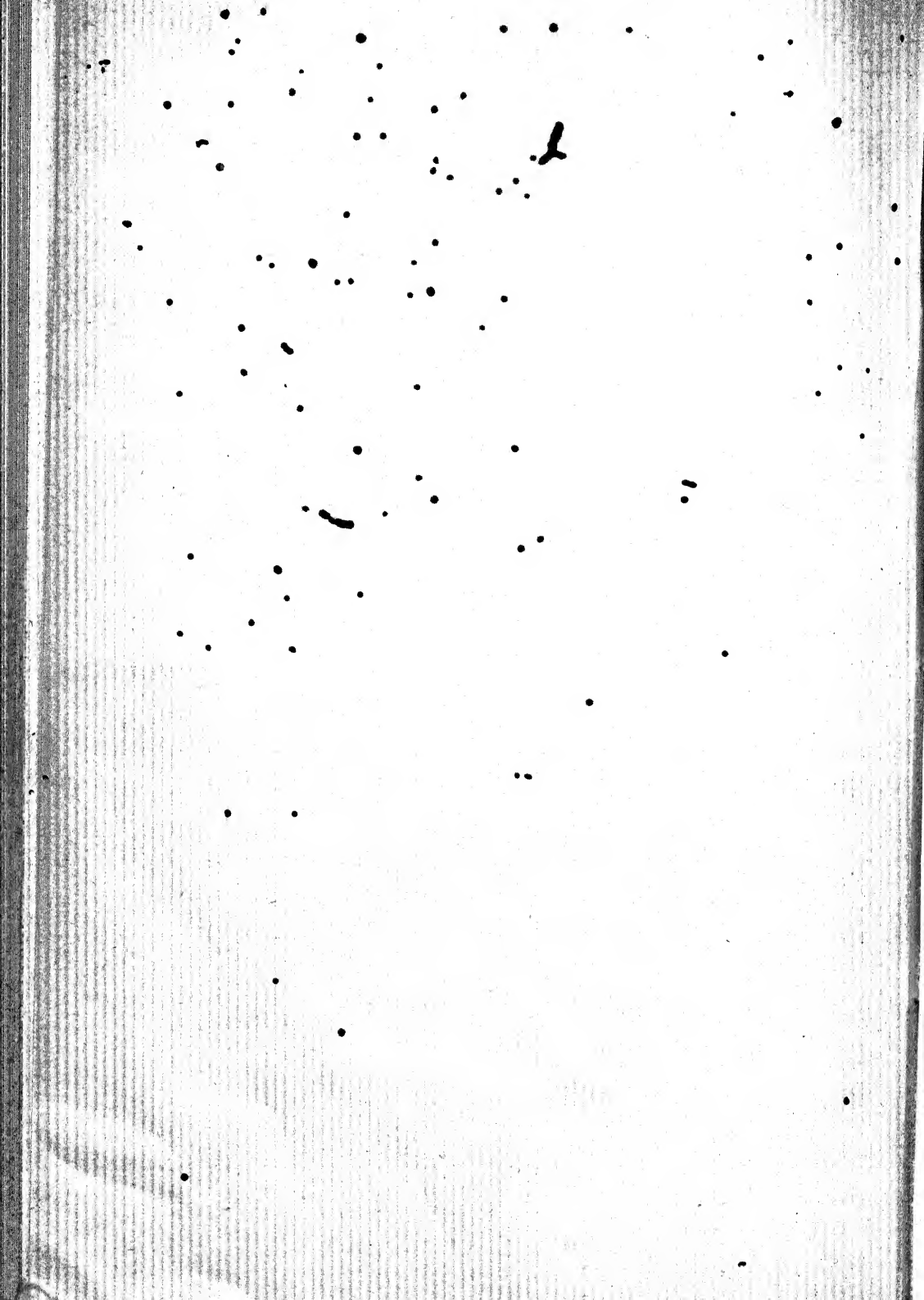
PLANCHE XII

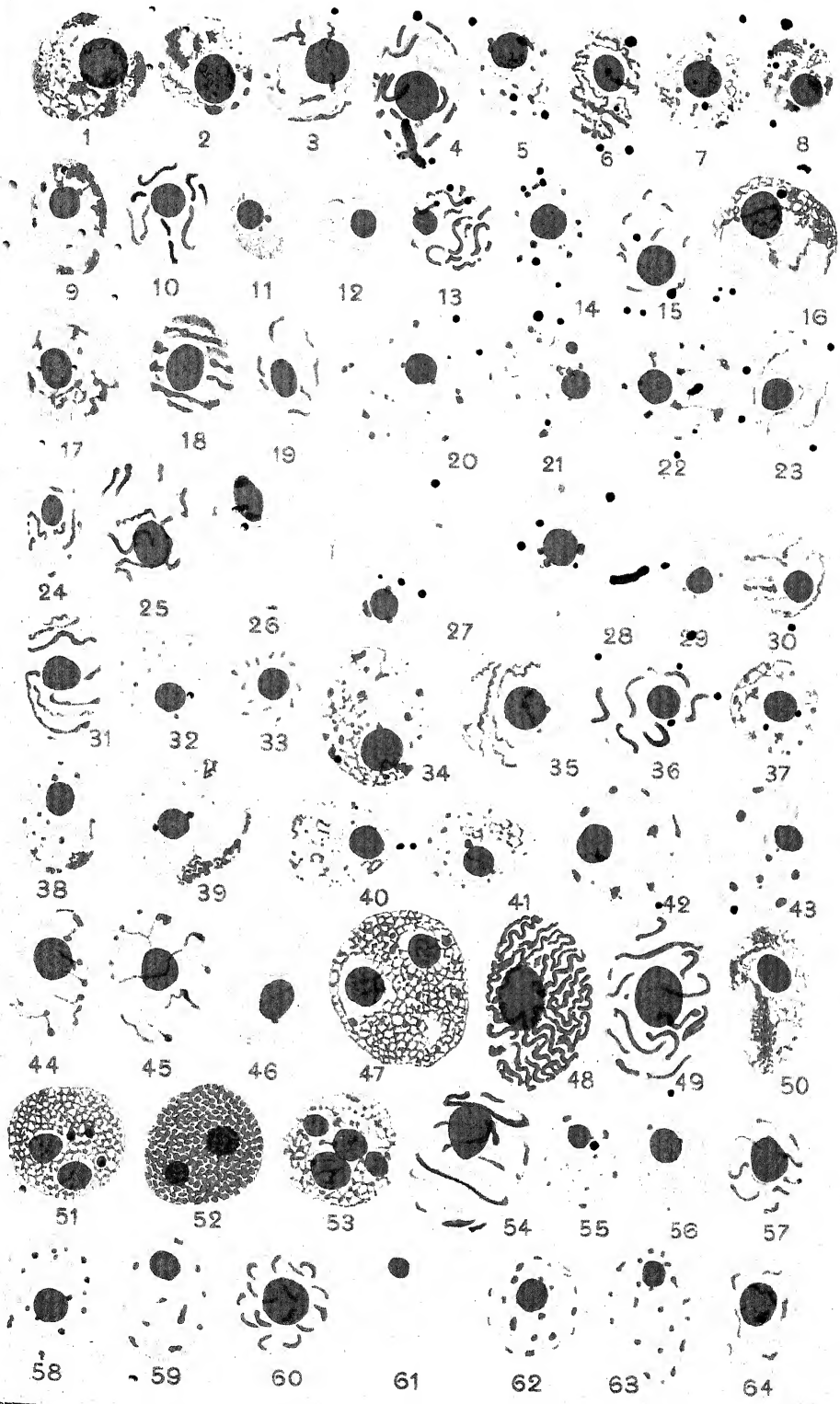
- FIG. 1, 2 et 3. — *Albizzia Julibrissin* DURRAZZ. — 1, noyau quiescent; 2 et 3, prophase.
- FIG. 4, 5 et 6. — *Mimosa* sp. — 4, noyau quiescent; 5, Préprophase; 6, prophase.
- FIG. 7, 8 et 9. — *Cassia* sp. — 7 et 8, noyaux quiescents; 9, début de prophase.
- FIG. 10, 11, 12 et 13. — *Ceratonia Siliqua* L. — 10 et 11, noyaux quiescents; 12, début de prophase; 13, prophase plus avancée.
- FIG. 14, 15 et 16. — *Sophora viciaefolia* SALISB = *Virgilia capensis* Lam. — 14, noyau quiescent; 15, début de prophase; 16, prophase plus avancée.
- FIG. 17, 18 et 19. — *Baptisia australis* R. B. — 17 et 18, noyaux quiescents; 19, prophase.
- FIG. 20 à 29. — *Crotalaria incana* L. — 20 et 21, noyaux interphasiques; 22 à 26, différents stades de prophase; 27 et 28, noyaux quiescents des parties plus âgées de la racine; 29, noyau interphasique montrant nettement des chromocentres.
- FIG. 30, 31 et 32. — *Lupinus albus* L. — 30, noyau interphasique; 31, prophase; 32, noyau quiescent plus âgé.
- FIG. 33 et 42. — *Spartium junceum* L. — 33, noyau interphasique; 42, prophase.
- FIG. 34 et 46. — *Genista tinctoria* L. — 34, noyau interphasique; 46, noyau quiescent.
- FIG. 35, 43 et 48. — *Laburnum vulgare* GRISEB. — 35, noyau interphasique; 43, prophase; 48, noyau quiescent.
- FIG. 37, 41 et 44. — *Ulex europaeus* L. — 37, noyau interphasique; 41, prophase (à son début); 44, noyau quiescent.
- FIG. 38 et 47. — *Cytisus Alschingeri* L. — 38, noyau interphasique; 47, noyau quiescent.
- FIG. 36, 40 et 45. — *Sarothamnus scoparius* KOCH. — 36, noyau interphasique; 40, début de prophase; 45, noyau quiescent.
- FIG. 39 et 49. — *Calycotome spinosa* L. — 39, noyau interphasique; 49, noyau quiescent.
- FIG. 50 à 56. — *Ononis rotundifolia* L. — 50 à 53, noyau quiescent; 54 à 56, divers stades de prophase.
- FIG. 57 et 58. — *Trigonella Fœnum graecum* L. — noyaux quiescents.
- FIG. 59 et 60. — *Medicago echinus* DC. — noyaux quiescents.
- FIG. 61. — *Melilotus officinalis* LAM. — noyau quiescent.
- FIG. 62. — *Trifolium rubens* L. — noyau quiescent.

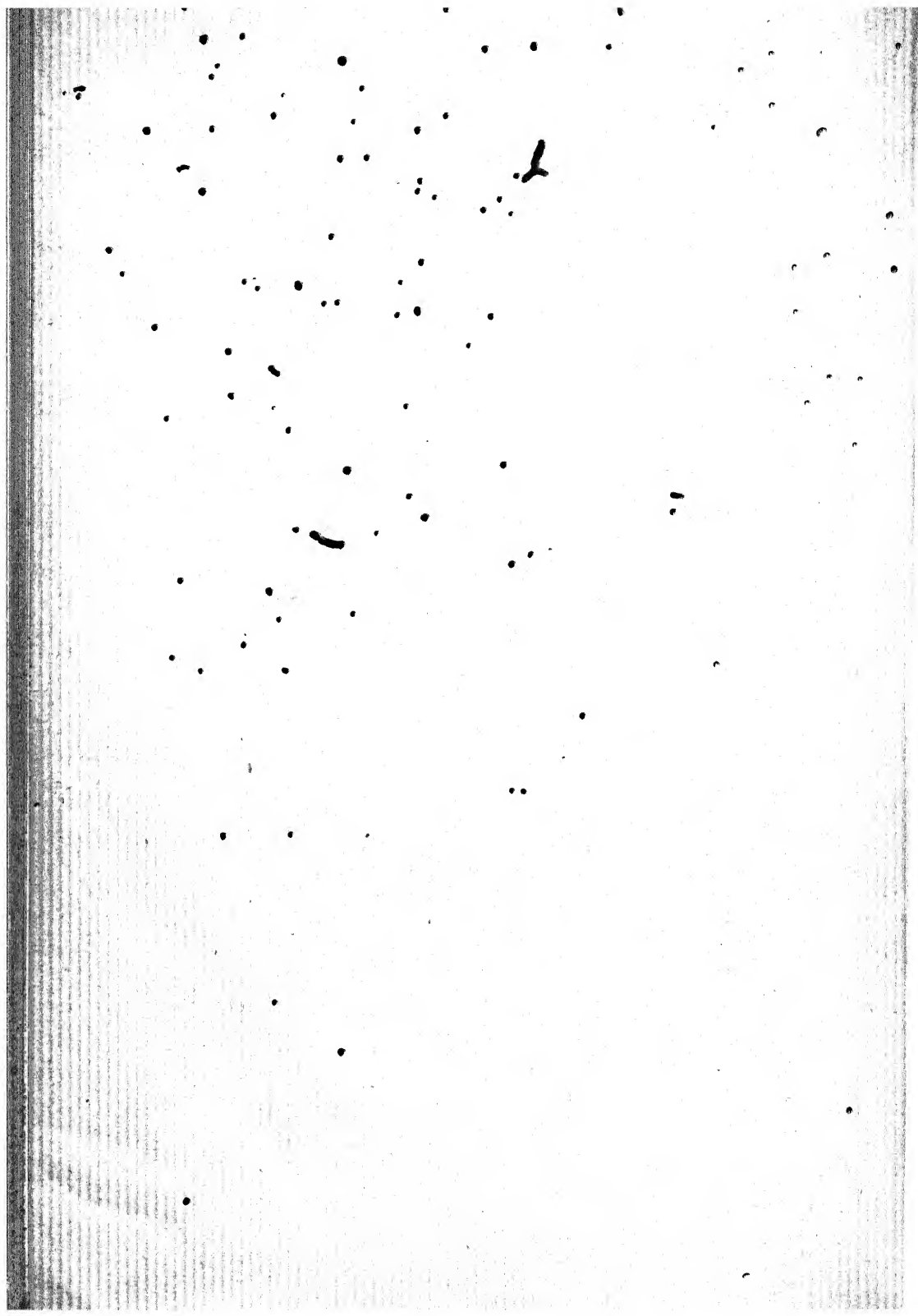
PLANCHE XIII

- FIG. 1 à 4. — *Anthyllis tetraphylla* L. — 1 et 2, noyaux quiescents; 3, début de prophase; 4, fin de prophase.
- FIG. 5 et 6. — *Hymenocarpus circinnatus* SAVI. — 5, noyau quiescent; 6, début de prophase.
- FIG. 7 et 8. — *Securigera coronilla* D. C. — noyaux quiescents.
- FIG. 9 et 10. — *Dorycnium suffruticosum* VILL. — 9, noyau quiescent; 10, prophase.
- FIG. 11 à 13. — *Indigofera tinctoria* L. — 11, noyau quiescent; 12, début de prophase; 13, fin de prophase.
- FIG. 14 et 15. — *Psoralea bituminosa* L. — 14, noyau quiescent; 15, prophase.
- FIG. 16 à 19. — *Galega officinalis* L. — 16 et 17, noyaux quiescents; 18, début de prophase; 19, fin de prophase.
- FIG. 20 à 25. — *Wistaria sinensis* SWEET. — 20, 21, 22, noyaux quiescents; 23, 24, 25, différents stades de la prophase.
- FIG. 26 à 31. — *Colutea cruenta* DRYAND. — 26, 27, 28, noyaux quiescents; 29, noyau interphasique; 30, début de prophase; 31, prophase plus avancée.
- FIG. 32 et 33. — *Glycyrrhiza echinata* L. — 32, noyau quiescent; 33, prophase.
- FIG. 34 à 36. — *Coronilla viminalis* L. — 33, noyau quiescent; 34, début de prophase; 35, fin de prophase.
- FIG. 37. — *Scorpiurus muricata* L. — noyau quiescent.
- FIG. 38. — *Hippocrepis unisiliquosa* L. — noyau quiescent.
- FIG. 39. — *Ornithopus sativus* BROU. — noyau quiescent.
- FIG. 40. — *Hedysarum obscurum* L. — noyau quiescent.
- FIG. 41. — *Onobrychis Caput-Galli* LAM. — noyau quiescent.
- FIG. 42 à 46. — *Cicer arietinum* L. — 42 et 43, noyaux quiescents; 44 et 45, débuts de prophase; 46, prophase.
- FIG. 47 à 49. — *Vicia Faba* L. — 47, noyau quiescent; 48, début de prophase; 49, fin de prophase.
- FIG. 50. — *Ervum lens* L. = *Lens esculenta* L. — noyau quiescent.
- FIG. 51 et 52. — *Lathyrus Cicera* L. — 51, noyau quiescent; 52, préprophase.
- FIG. 53 et 54. — *Pisum sativum* L. — 53, noyau quiescent; 54, prophase.
- FIG. 55 à 57. — *Abrus precatorius* L. — 55 et 56, noyaux quiescents; 57, prophase.
- FIG. 58 à 61. — *Glycine Soja* SIEB. — 58, noyau interphasique; 59, début de prophase; 60, prophase; 61, noyau quiescent âgé.
- FIG. 61 à 64. — *Phaseolus vulgaris* L. — 62 et 63, noyaux quiescents; 64, prophase.









Sur l'obtention de plantes octoploïdes et hétéroploïdes après traitement par la colchicine

Note de MM. MARC SIMONET et ROBERT CHOPINET

(Mémoire reçu le 23 décembre 1939).

Dans des notes précédentes, l'un de nous avec ses collaborateurs a fait connaître qu'à la suite d'applications de colchicine, des variations tétraploïdes ($4n$) et géantes étaient apparues dans les genres suivants : *Petunia*, *Linum*, *Raphanus*, *Brassica* et *Vinca* (M. SIMONET, R. CHOPINET, P. DANSEREAU et G. SOUILLIAERT, 1938 et 1939).

Au cours de récentes recherches, nous venons d'obtenir, après traitement avec le même alcaloïde : d'une part, de nouveaux dédoublements chromosomiques chez des mutants tétraploïdes de *Petunia* déjà réalisés l'année dernière (M. Simonet et P. Dansereau, 1938), d'autre part, deux sortes de variations polyploïdes chez le *Radis noir* (1). Des plantes octoploïdes ($8n$) sont apparues dans les deux cas.

La présente note a pour but d'exposer le résultat de ces études poursuivies au Centre de Recherches Agronomiques de Provence (Villa Thuret, Antibes, A.-M.).

Tous les examens caryologiques ont été faits dans les cellules-mères des grains de pollen à l'aide de la méthode au carmin-acétique de Belling; aussi, les nombres somatiques de chromosomes ($2n$) qui sont donnés au cours de cet exposé, ne correspondent-ils qu'à la totalité des éléments observés dans les cellules-mères des grains de pollen à la division homéotypique (2).

Les traitements à la colchicine ont été opérés ainsi : en mai dernier, des jeunes semis, une centaine de *Petunia* et une cinquantaine de *Radis noirs*, ont été badigeonnés entre les cotylédons, deux fois et à 3-4 jours d'intervalle, avec une gelée encore tiède d'agar-agar contenant 1 % de colchicine (3).

(1) Race Vilmorin de *Radis noir* « gros long d'hiver ».

(2) Dans chaque cas, les dénombrements ont été effectués plusieurs fois et trouvés constants, bien que la division de chromosomes univalents nous ait paru possible à l'anaphase hétérotypique.

(3) Au moment de l'emploi, un bouillon de gélose à 3 % est additionné à volume égal, d'une solution aqueuse de colchicine à 2 %.

Comme toutes les plantes qui subissent une application de colchicine, les individus traités ont manifesté les réactions suivantes : arrêt marqué de la végétation, épaississement et déformation des feuilles qui peuvent même prendre l'apparence de certains états pathologiques : mosaïque, enroulement et frisolée (fig. 1, B).



FIG. 1. — Action de la colchicine sur le *Petunia* : A, Plante témoin; B. Plante traitée.

Chez le *Petunia*, au moment de la floraison, et par rapport aux individus des lots de contrôle, 38 % des plantes étaient nettement déformées et atteintes d'un gigantisme partiel : feuilles très larges, fortement épaissies; tiges charnues, fragiles, sans consistance et plus ou moins retombantes; fleurs à corolle d'une taille plus grande que

celle des plantes diploïdes et cependant moindre que celle des tétraploïdes, à contours plus ou moins frangés, souvent, incisés, plissés, parfois même réduits à la seule ouverture du tube du périanthe. De plus, le style était épaissi et le stigmate visiblement très élargi.

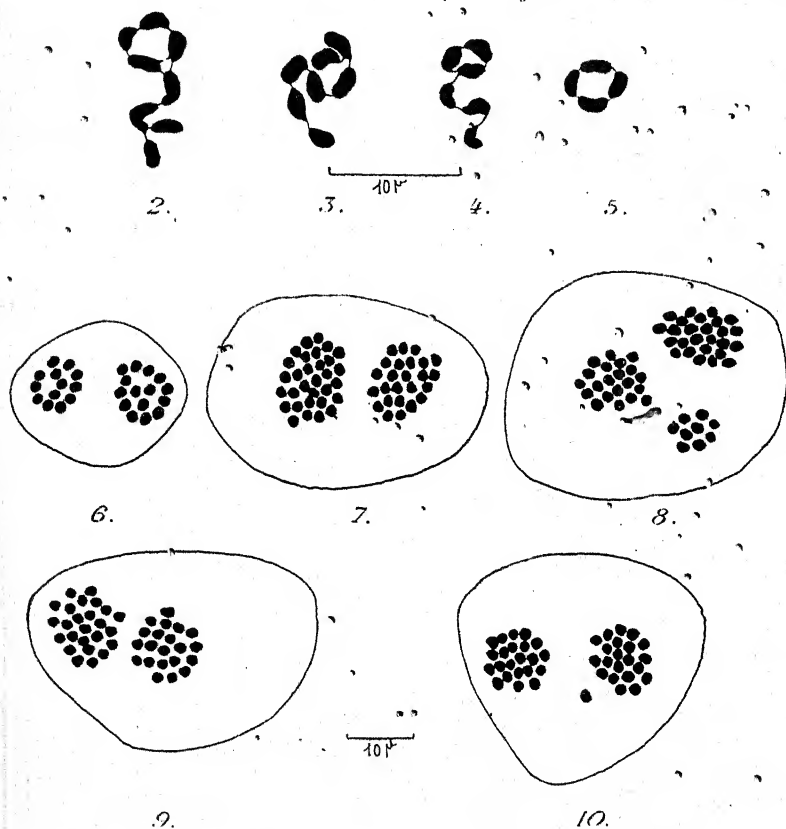


Fig. 2 à 10. — La méiose chez les mutants tétraploïdes, octoploïdes et hétéroploïdes de *Petunia*.

Fig. 2 à 5. — Chromosomes multivalents (*Zeiss (L) obj. Apo. I, 5 (120), oc. comp. 15 ×*) : 2, octovalent; 3, heptavalent; 4, hexavalent; 5, tétravalent.

Fig. 6 à 10. — Métaphases homéotypiques (*Zeiss (L) obj. 1/12 (100), oc. 10 ×*) : 6, Plante tétraploïde (témoin) $2n = 28$ (13 + 15); 7 à 8, Variations octoploïdes $2n = 56$; 7 (n° 7) (31 + 25); 8 (n° 12) (9 + 26 + 21); 9 et 10, hétéroploïdes; 9 (n° 15) $2n = 46$ (25 + 21); 10 (n° 38) ($2n = 44$) (1 + hétéroploïdes; 9 (n° 15) $2n = 46$ (25 + 21); 10 (n° 38) ($2n = 44$) (1 + 22 + 21).

L'examen du pollen de toutes ces plantes aberrantes a montré, non seulement une forte régression dans la proportion des grains bien conformés, mais encore une augmentation du double en volume de ceux-ci par rapport aux grains de pollen des plantes des lots témoins.

L'étude caryologique de sept d'entre elles (nos 5, 6, 7, 12, 15, 17 et 38) a donné les résultats suivants : deux plantes octoploïdes (fig. 7 et 8) à $2n = 56$ (nos 7 et 12), deux plantes hétéroploïdes (fig. 9 et 10), l'une à $2n = 44$ (n° 38), l'autre à $2n = 46$ (n° 15) et enfin trois plantes mixoploïdes (nos 5, 6 et 17) donnant, dans une même étamine, deux

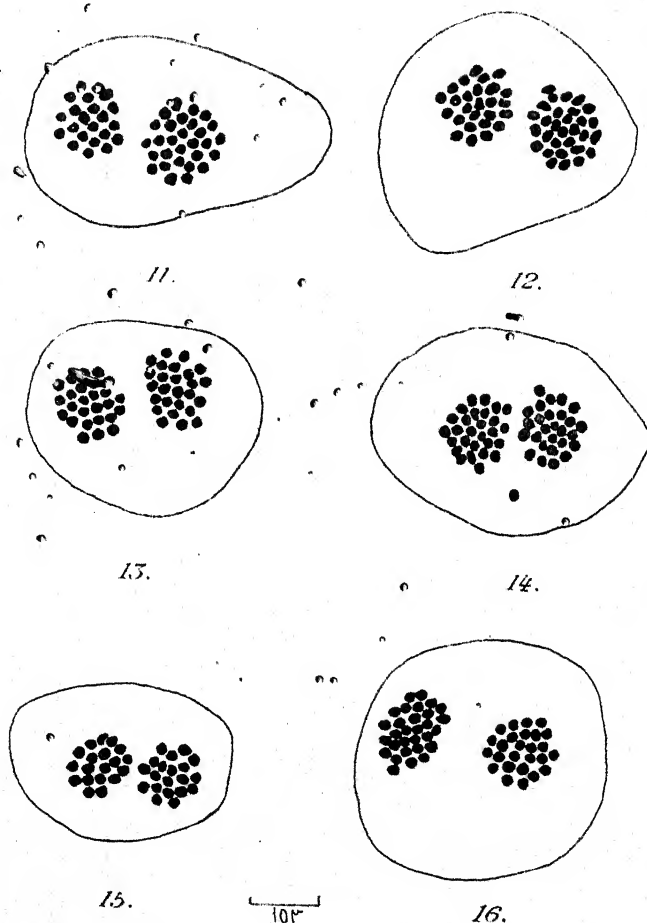


FIG. 11 à 16. — Métaphases homéotypiques chez des mutants mixoploïdes de *Petunia* (Zeiss) (L) obj. 1/12 (100), oc. 10 ×); 11 et 12 (n° 5); 11, $2n = 51$ (22 + 29); 12, $2n = 56$ (30 + 26); 13 et 14 (n° 6); 13, $2n = 52$ (26 + 26); 14, $2n = 56$ (1 + 28 + 27); 15 et 16 (n° 17); 15, $2n = 39$ (19 + 20); 16, $2n = 56$ (30 + 26).

sortes de cellules-mères, les unes octoploïdes à $2n = 56$ (fig. 12, 14 et 16), les autres hétéroploïdes (fig. 11, 13 et 15) à $2n = 39$ (n° 17), $2n = 51$ (n° 5) et $2n = 52$ (n° 6). Quant aux plantes des lots témoins, elles sont tétraploïdes à $2n = 28$ (fig. 6).

La méiose de toutes ces plantes est aberrante. A la métaphase hétérotypique il existe des éléments univalents et multivalents et d'ailleurs assez difficiles à dénombrer avec exactitude. Parmi ces derniers, notons la présence de chromosomes octovalents (fig. 2), heptavalents (fig. 3), hexavalents (fig. 4), tétravalents (fig. 5), etc.; la plupart conjugués plus ou moins régulièrement en forme de chapelets ou d'anneaux. L'anaphase est irrégulière et des éléments demeurent fréquemment éparpillés dans le cytoplasme, à l'intercinèse, ce qui fait qu'à la division homéotypique, il peut y avoir, en plus des deux plaques équatoriales, des éléments isolés dans le protoplasme (fig. 14) ou parfois même groupés en une troisième métaphase (fig. 8). Aussi, à la métaphase homéotypique des variations octoploïdes, à côté des quelques cellules présentant une répartition régulière des chromosomes $38 + 28$, existe-t-il de très nombreuses cellules-mères dans lesquelles nous avons noté les distributions anormales ci-après : $29 + 27$; $30 + 26$; $31 + 25$ (fig. 7);

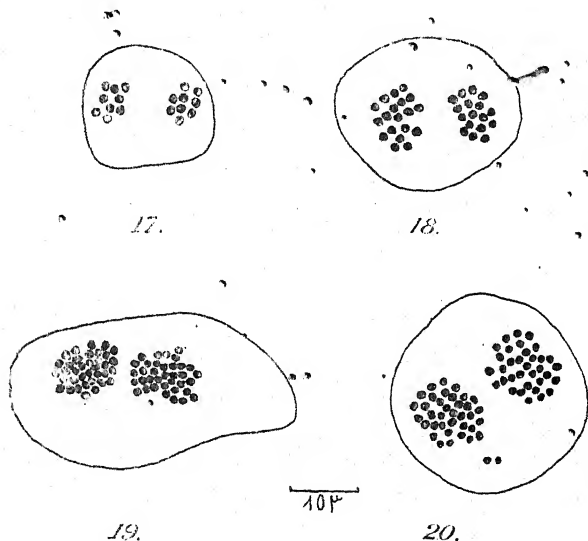


FIG. 17 à 20. — Métaphases homéotypiques chez des mutants polyploïdes de *Rutis* (Zeiss (L) obj. 1/12 (100), oc. 10 \times) : 17, plante diploïde (témoin) $2n = 18$ ($9 + 9$); 18, variation tétraploïde $2n = 36$ ($19 + 17$); 19 et 20, mutant octoploïde $2n = 72$; 19 ($36 + 36$); 20 ($2 + 34 + 36$).

$1 + 28 + 27$; $11 + 15 + 30$; $9 + 21 + 26$ (fig. 8); $1 + 12 + 25 + 18$, etc. Chez les plantes hétéroploïdes, la répartition des chromosomes est irrégulière, mais les nombres observés sont, bien entendu, groupés différemment (fig. 9 et 10).

Au stade tétrade, les cellules-mères sont également aberrantes contenant jusqu'à une dizaine de microspores. Il en résulte que le pollen ne renferme plus que 5 à 20 % de grains bien conformés alors

qu'il en existe 60 % chez les plantes des lots de contrôle. Quant à la fertilité de ces variations, elle est probablement nulle, aucune graine n'ayant pu être récoltée cette année.

Chez le *Radis*, une vingtaine de plantes sont arrivées à floraison, parmi lesquelles il y en avait 9 à grandes fleurs qui ont donné deux sortes de variations polyploïdes.

D'une part, huit mutants ont présenté des grains de pollen ayant un volume double de celui des plantes témoins. Deux de ces plantes ont été étudiées caryologiquement, elles sont tétraploïdes à $2n = 36$ (fig. 18), alors que celles des lots de contrôle, à fleurs plus petites, sont diploïdes à $2n = 18$ (fig. 17). La méiose de ces variations se comporte de la même manière que celle que l'un de nous a déjà notée chez les mutants tétraploïdes de *Radis rose* (M. SIMONET, 1938, b).

D'autre part, une plante ayant des grains de pollen doubles en volume de ceux de deux plantes tétraploïdes signalées ci-dessus. Caryologiquement, cette variation est octoploïde à $2n = 72$. La métaphase hétérotypique n'a pu être étudiée, mais à la division homéotypique nous avons noté les répartitions suivantes : $36 + 36$ (fig. 19), $35 + 37$, $1 + 35 + 36$ et $2 + 34 + 36$ (fig. 20). Au stade tétrade, il existe des microspores en surnombre, et le pollen de cette plante ne contient plus que 20 % de grains bien conformés.

Ces variations tétraploïdes et octoploïdes de *Radis* ne sont pas entièrement stériles. Plusieurs capsules se sont formées et quelques graines normalement constituées ont été récoltées.

* * *

L'obtention de plantes octoploïdes et mixoploïdes chez le *Pelunia* confirme les résultats déjà donnés par A. LEVAN (1938) dans des expériences analogues avec la même plante. Mais alors que cet auteur n'a vu apparaître que deux mutants octoploïdes dans une proportion égale à 0,13 %, le pourcentage réalisé dans nos expériences est nettement supérieur : il est de 2 % et aurait certainement été encore plus élevé si toutes les plantes anormales avaient pu être étudiées caryologiquement.

Par contre, la présence de variations hétéroploïdes à $2n = 44$ et 46 est nouvelle. Dans la série polyploïde, elles peuvent être rapportées à des types hyper-hexaploïde ($2n = 42 + 2$) et hypo-heptaploïde ($2n = 49 - 3$) dont l'origine ne peut être expliquée que par un dédoublement d'une partie des chromosomes des cellules initiales de la plumule, alors que ce dédoublement a été total pour les variations octoploïdes. Mais, dans les mutants mixoploïdes — qui peuvent être interprétés comme des mosaïques de deux ou plusieurs tissus à nombres chromosomiques différents — le dédoublement a dû être total dans une

partie des cellules initiales de la variation de bourgeons et partiel dans l'autre.

Chez le *Radis*, les dédoublements chromosomiques ont été plus simples : ils n'ont eu lieu qu'une seule fois pour les variations tétraploïdes et deux fois pour la mutation octoploïde. D'ailleurs, cette plante octoploïde est le premier exemple, dans nos expériences, d'une variation obtenue directement avec un nombre multiple de chromosomes aussi élevé.

D'autre part, aussi bien chez le *Radis* que chez le *Petunia* — et consécutivement aux anomalies de la méiose — la stérilité du pollen est beaucoup plus grande chez les plantes octoploïdes que chez les tétraploïdes. De même, les grains de pollen des octoploïdes sont beaucoup plus volumineux, doubles de ceux des plantes tétraploïdes dont les grains se comportent d'ailleurs de la même manière vis-à-vis de ceux des sujets diploïdes. Ainsi donc, dans la recherche de la polyploidie, en premier examen, l'étude des grains de pollen peut déjà permettre une sélection d'une réelle valeur, puisque dans toutes nos investigations, la grosseur des grains de pollen s'est toujours montrée comme un caractère directement proportionnel aux nombres chromosomiques observés dans les cellules-mères.

Morphologiquement, les mutants de *Radis* et de *Petunia* ne se comportent pas tout à fait de la même manière. Dans les premiers, les variations octoploïdes sont fort peu différentes des tétraploïdes, au point qu'il est assez malaisé de les distinguer, alors que dans les seconds, il y a de grandes dissemblances. Ces dissemblances sont telles chez les *Petunia* que les octoploïdes ont même perdu toute la valeur décorative des tétraploïdes, non seulement par la petite taille des fleurs, mais encore par la malformation fréquente de la corolle et par la grande fragilité des autres parties herbacées. Ainsi donc, dans le cas du *Petunia*, l'octoploidie ne correspond guère à une variation progressive, aussi bien d'ailleurs au point de vue économique qu'au point de vue évolutif, puisque les mutants octoploïdes de *Petunia* paraissent complètement stériles, du moins auto-stériles. Par contre, chez le *Radis*, la même catégorie de mutants est fertile ou partiellement fertile.

Enfin, signalons que la technique employée — gélose colchicinée — est non seulement très efficace dans ses résultats, mais encore d'un emploi fort simple. Bien que l'action de la colchicine soit toxique, ce mode d'application est assez bien supporté par les jeunes semis ; et c'est au stade cotylédons que l'action du traitement nous paraît optimum. En tout cas, cette action est beaucoup moins nocive que celle qui consiste à immerger les graines pendant un certain temps dans une solution aqueuse de colchicine — méthode par laquelle le système racinaire est parfois arrêté d'une manière si intense dans son développement que tout enracinement devient impossible.

BIBLIOGRAPHIE

1938. A. LEVAN. — Tetraploidy and Octaploidy induced by Colchicine in diploid *Petunia*. *Hereditas*, t. 25, p. 109-131.
1938. M. SIMONET et P. DANDREAU. — Sur plusieurs mutations tétraploïdes de *Petunia* apparues après traitement à la colchicine. *C. R. Acad. Sc.*, t. 206, p. 1832-1834.
1938. M. SIMONET, R. CHOPINET et G. SOUILLJAERT. — Sur l'obtention d'un *Linum usitatissimum* tétraploïde, après application de colchicine. *C. R. Acad. Sc.*, t. 207, p. 85-87.
- 1938 a. M. SIMONET. — De l'obtention de variétés à grandes fleurs, après application de colchicine. *Rev. Hort.*, t. 26, p. 159-161.
- 1938 b. M. SIMONET. — Sur l'obtention de plantes géantes et polyploïdes après application de colchicine. *C. R. Acad. Agr.*, t. 23, p. 846-850.
- 1938 c. M. SIMONET. — Sur l'hérédité des mutations tétraploïdes de *Petunia* obtenues après application de colchicine. *C. R. Acad. Sc.* t. 207, p. 1126-1128.
1939. M. SIMONET et R. CHOPINET. — Apparition de mutations géantes et polyploïdes chez le Colza, la Pervenche et le Lin à grandes fleurs après application de colchicine. *C. R. Acad. Sc.*, t. 209, p. 238-240.
-

Récherches sur la coloration vitale et la formation des précipités vacuolaires. Morphologie du système vacuolaire des hyphes lichéniques

par A. REDON.

(Mémoire reçu le 3 mai 1939).

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION.....	239
ÉTUDE DE LA RÉACTION « IN VITRO », DES COLORANTS VITAUX ET DE DIVERS COLLOÏDES NATURELS.....	241
Le rouge neutre.....	242
Le bleu de crésyle.....	246
Considérations.....	246
MORPHOLOGIE DU SYSTÈME VACUOLAIRE DES CHAMPIGNONS DES LICHENS ET APERÇU SUR LA NATURE DE LEUR MEMBRANE..	248
Peltigéracées.....	249
Physciacées.....	253
Parméliacées.....	254
Cladoniées.....	254
Everniées.....	255
Lécanorées.....	256
Collémacées.....	256
Conclusions.....	257
BIBLIOGRAPHIE.....	259
EXPLICATION DES PLANCHES.....	260

INTRODUCTION

Depuis PFEFFER, qui en est le précurseur en Cytologie végétale, la méthode de coloration vitale a été utilisée par de nombreux savants. GUILLIERMOND, P. A. DANGEARD, MANGENOT, etc..., l'ont mise à profit dans l'étude du système vacuolaire de beaucoup d'espèces végétales.

A notre connaissance, cette étude n'avait pas été faite pour les hyphes des Lichens. Il nous a paru intéressant de rechercher les variations que pouvait subir la morphologie du système vacuolaire de ces Végétaux, soumis à des alternatives de sécheresse et d'humidité, et qui, bien souvent, n'ont comme toute ressource d'eau que l'eau atmosphérique.

Une étude comparable a été faite par A. DE PUYMLAY qui, dans ses recherches sur les Algues vertes aériennes, nous a fait connaître l'aspect des vacuoles de ces espèces, « ... dont la période de vie active, c'est-à-dire celle qui correspond à la croissance et à la multiplication cellulaires, s'accomplit toujours en dehors du milieu aquatique, aux dépens de l'eau météorique et de la lumière solaire ». Nous verrons qu'il y a une grande analogie dans le système vacuolaire de ces Algues aériennes et des Champignons des Lichens.

D'autre part, en utilisant le rouge neutre dans notre travail, nous avons remarqué, dans *Peltigera*, surtout lorsque le matériel était récolté après des pluies persistantes, la présence de nombreuses granulations mobiles à l'intérieur des vacuoles.

Cette précipitation vacuolaire a été relatée par tous les observateurs qui ont utilisé la méthode de coloration vitale.

GUILLIERMOND, cherchant à préciser le mécanisme de la coloration vitale, s'exprime ainsi à ce sujet, dans son *Traité de Cytologie végétale* : « Ces phénomènes se réduisent donc, en gros, à une floculation des colloïdes vacuolaires suivie, si le colorant est en solution suffisamment concentrée, d'une dissolution des précipités et d'une coloration homogène du suc vacuolaire. »

Néanmoins, la réaction du rouge neutre et des substances colloïdales naturelles n'avait pas été étudiée en dehors de la cellule.

C'est ce que nous avons cherché à faire dans la première partie de ce travail.

Ce précipité vacuolaire étant dû à une réaction d'un colorant vital et d'une substance colloïdale, nous avons essayé :

1^o de rechercher, *in vitro*, les conditions suivant lesquelles il pouvait se former un précipité d'aspect semblable à ce précipité vacuolaire, dans quelques solutions de colloïdes organiques en contact avec les colorants vitaux;

2^o de rechercher les conditions de solubilité de ce précipité. Nous avons étudié cette réaction « colorant-colloïde » avec les colloïdes suivants : gomme arabique, glycogène, albumine de l'œuf, tanin, ainsi qu'avec un phosphatide très répandu dans les vacuoles, la phytine, qui forme la plus grande partie du globoside du grain d'aleurone. Nous avons employé les deux colorants vitaux les plus usuels : rouge neutre et bleu de crésyle.

Nous nous sommes placé uniquement du point de vue pratique, en laissant de côté toute considération théorique d'ordre physico-chimique.

Après cette première partie, nous exposerons le résultat de nos recherches sur la morphologie du système vacuolaire des hyphes des Lichens. Mais la difficulté de pénétration du colorant dans certaines espèces nous a conduit à entrevoir une influence possible de la nature

de la membrane des hyphes sur cette pénétration et à faire, pour chaque espèce de Lichen, une étude préalable de la membrane.

Telle sera la seconde partie.

La troisième partie sera consacrée aux considérations générales qui se déduisent de cette étude.

Nous prions MM. les Professeurs GUILLIERMOND et MANGENOT d'agréer nos remerciements pour leur bienveillant accueil et l'hospitalité qu'ils nous ont accordée dans cette Revue.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE « IN VITRO » DE LA RÉACTION

COLORANT-COLLOÏDE

Au moment où fut entrepris ce travail (1933), nous ignorions les remarquables travaux de BUNGENBERG DE JONG sur la coacervation. L'influence de la coacervation dans la coloration vitale n'avait pas échappé à ce savant, puisqu'il écrivait : « Les coacervats de colloïdes hydrophiles, provoqués par les matières colorantes, sont importants en Biologie. Ils nous font penser que les corps rendus visibles par coloration pourraient ne pas exister avant ce traitement : le colorant pourrait, en effet, entraîner leur formation (par exemple à partir d'un sol ou d'un coacervat complexe); il est possible que ces faits aient également une certaine importance pour la coloration vitale. »

Les phénomènes que nous relatons ne sont rien d'autre que des phénomènes de coacervation complexe, l'un des colloïdes en présence étant le rouge neutre ou le bleu de crésyle.

Ce que nous nommons, improprement, « granulations sphériques » correspond aux « gouttelettes de coacervat » de BUNGENBERG DE JONG.

En effet, nous retrouvons là les caractéristiques de la coacervation complexe définie par lui :

1° formation de gouttelettes visibles microscopiquement sous certaines conditions;

2° optimum de précipitation suivant la proportion des composants;

3° influence du pH;

4° influence des sels neutres sur la précipitation;

5° influence de la valence des anions et des cations (influence s'accordant en tous points avec les conclusions de BUNGENBERG DE JONG);

6° influence de la température sur la solubilisation du complexe colorant-colloïde.

LE ROUGE NEUTRE

Gomme arabe

Une solution de rouge neutre ajoutée peu à peu à une solution de gomme y détermine la formation d'un précipité formé de corpuscules granuleux qui, au fur et à mesure de l'addition de rouge, deviennent de plus en plus gros et, pour une concentration suffisante en rouge, se transforment en un magma insoluble dans ces conditions.

Après décantation du liquide surnageant, ce magma se dissout dans une solution de gomme concentrée, mais il ne se dissout que très peu dans l'eau distillée.

Si l'on fait varier la concentration en gomme de la solution, en employant une solution de même concentration en rouge, on constate que, pour obtenir un trouble maximum et complet du mélange (en opérant, bien entendu, dans les mêmes conditions), il faut une quantité de rouge proportionnelle à la teneur en gomme.

Nous avons fait des solutions de gomme de plus en plus concentrées et déterminé, pour chacune de ces solutions, la quantité de solution de rouge à 1/1.000, nécessaire pour amener un début de trouble, puis le trouble maximum et complet.

Il ne s'agit là que d'une approximation, le coefficient personnel pouvant jouer un certain rôle dans l'appréciation du début et du maximum de trouble. Nous avons trouvé :

SOLUTION DE GOMME		SOLUTION DE ROUGE A 1/1.000	
Volume en cc.	Concentration	Nombre de cc. nécessaires pour :	
		Début de trouble	Trouble maximum
10 cc.	1/10.000	1 cc.	1 cc. 2
5 cc.	1/1.000	1 cc. 5	2 cc.
1 cc.	1/100	2 cc.	4 cc.
1/2 cc.	1/10	10 cc.	20 cc.

ce qui représente, pour 100 cc., en tenant compte du volume final, une quantité de rouge et de gomme exprimée par les chiffres ci-dessous :

		Début de trouble		Trouble complet	
		gomme 0/0	rouge 0/0	gomme 0/0	rouge 0/0
Gomme à	$\frac{1}{10.000}$	0,009	0,009	0,009	0,010
—	$\frac{1}{1.000}$	0,076	0,023	0,074	0,028
—	$\frac{1}{100}$	0,330	0,066	0,200	0,080
—	$\frac{1}{10}$	0,470	0,094	0,250	0,097

La précipitation de la gomme par le rouge neutre ressemble donc à une réaction chimique pondérale.

Si nous considérons les concentrations en gomme les plus élevées du tableau, nous voyons que la précipitation ne commence qu'en présence d'une quantité de rouge égale à un cinquième du poids de gomme. Pour les concentrations plus faibles en gomme, il y a lieu de tenir compte de la faible solubilité dans l'eau du complexe gomme-rouge.

CAS DE LA GOMME EN SOLUTION SALINE.

Si l'on ajoute une faible quantité de chlorure de sodium au liquide tenant en suspension le précipité gomme-rouge, on constate qu'il se dissout immédiatement.

Nous avons recherché les différentes concentrations en rouge neutre nécessaires pour amener la précipitation de la gomme solubilisée en présence de différents sels.

Voici, à titre d'exemple, les résultats obtenus avec le chlorure de sodium. Les résultats sont rapportés à 100 cc.

Gomme 0/0 cc.	0,077	0,0757	0,0724	0,07	0,0675	0,0649	0,055
Rouge.....	0,023	0,024	0,027	0,029	0,0324	0,035	0,044
NaCl.....	0,375	0,450	0,506	0,600	0,607	0,649	0,825
Normalité.....	1/15	1/13	1/12	1/10	1/9,6	1/9	1/7

En première approximation, on peut déduire que la concentration en rouge nécessaire pour amener la précipitation est proportionnelle à la concentration en NaCl.

Nous avons fait de même avec le sulfate et le citrate de soude, sels à anions di et trivalents, et nous avons trouvé, en ramenant à la normalité, qu'une concentration N/8,7 en NaCl, correspond à une concentration N/26 en SO_4Na^2 anhydre et à une concentration N/70 en citrate de soude.

Pour les cations, nous avons trouvé que l'action inhibitrice des cations divalents, était supérieure à celle des cations monovalents, eu égard à la formation du précipité rouge-colloïde.

Les non-électrolytes semblent sans action sur la solubilisation du complexe gomme-rouge.

INFLUENCE DE LA GRANDEUR DE pH.

Le rouge neutre ne produit dans une solution de gomme un précipité granuleux que si le mélange a un pH compris entre pH 3 et pH 10.

INFLUENCE DE LA CHALEUR.

Si l'on chauffe le mélange trouble obtenu à 15-16°, par addition de rouge neutre à une solution de gomme, on remarque que le mélange s'éclaircit peu à peu et devient limpide à une température plus ou moins élevée, suivant l'intensité du trouble produit : par exemple, à 35° pour le mélange de 5 cc. de gomme à 1/1.000 et de 2 cc. de la solution de rouge, à 46° pour le mélange de la même quantité de solution de gomme à 1/1.000 et de 2 cc. de la solution de rouge.

Le trouble se reforme par refroidissement.

Pour un précipité trop abondant l'éclaircissement n'est que partiel.

Glycogène

La même marche a été suivie pour l'étude de l'action du rouge sur le glycogène en solution.

En voici, très succinctement, le résultat :

1° le glycogène peut, en solution, donner avec le rouge neutre un précipité granuleux;

2° ce précipité est soluble dans un excès de rouge, assez soluble dans l'eau, insoluble dans un excès de glycogène;

3° ce précipité se redissout dans les solutions d'électrolytes; la facilité de dissolution est fonction de la concentration et de la nature des anions et des cations;

4° ce précipité se forme pour un pH compris entre pH 3 et pH 11;

5° il se dissout par la chaleur et se reforme par refroidissement.

Albumine de l'œuf

N'ayant pas à notre disposition d'albumine végétale, nous avons dû, à notre regret, faire porter nos essais sur l'albumine de l'œuf desséchée.

Voici les résultats obtenus :

1° l'albumine de l'œuf peut donner avec le rouge neutre un précipité granuleux;

2° ce précipité est assez soluble dans l'eau, soluble dans un excès de rouge, insoluble dans un excès d'albumine;

3° il se dissout en présence d'électrolytes; la facilité de dissolution est fonction de la concentration et de la nature des anions et des cations;

4° ce précipité se forme pour un pH compris entre pH 4,6 et pH 11;

Ces pH s'entendent comme pH final du mélange de la solution d'albumine avec une solution acide ou alcaline, l'addition d'albumine à une solution acide ou alcaline en modifiant le pH dans une importante proportion;

5° ce précipité se dissout à chaud, en tout ou en partie, selon son importance et l'élévation de la température.

Tanin

« Le tanin, d'après OSTWALD, en solution aqueuse, est un système intermédiaire entre les solutions colloïdales et les solutions moléculaires. »

On peut donc s'attendre avec le tanin à quelques différences de précipitation comparativement aux colloïdes précédents. Et en fait, voici ce que nous avons remarqué :

1° le tanin peut donner, dans certaines conditions, un précipité avec le rouge neutre. Ce précipité amorphe est bien différent des granulations sphériques obtenues avec les colloïdes précédemment étudiés;

2° ce précipité, insoluble dans l'eau, est soluble dans un excès de tanin;

3° la production de ce précipité, contrairement à la gomme, au glycogène et à l'albumine, est favorisée par l'adjonction d'électrolytes;

4° elle est également favorisée par l'addition d'un alcali qui augmente le pH de la solution;

5° ce précipité est soluble à chaud et se reforme par refroidissement.

Phytine

Les essais ont porté sur une solution de phytine à 1/100. Cette solution, de pH, n'est pas stable pour les pH supérieurs. L'addition d'une solution de rouge neutre y produit un précipité formé de granulations sphériques. Ce précipité se dissout à peu près complètement dans une solution de phytine à 1/10.

Il se dissout également par la chaleur ainsi que par l'addition d'électrolytes. Ceux-ci agissent différemment selon la valence de leurs anions et de leurs cations.

Enfin, il se produit un précipité pour tout pH supérieur à pH 0. Il nous a paru intéressant de rechercher la réaction, vis-à-vis du rouge neutre, du mélange phytine-albumine (une partie minime du globoïde de l'aleurone étant constituée par une substance voisine de la métachromatine (GUILLIERMOND)).

Tout d'abord, le mélange phytine-albumine n'est limpide que pour une très forte proportion de phytine par rapport à l'albumine (5 cc. d'une solution de phytine à 1/100 pour 0 cc., 3 d'albumine à 1/100). Si l'on ajoute au mélange limpide une minime quantité d'albumine, il se forme un précipité amorphe, soluble dans le chlorure de sodium.

Par l'addition d'une solution de rouge neutre, chacun des composants semble agir pour son propre compte. Il se produit des granulations, régulièrement sphériques, du complexe albumine-rouge et phytine-rouge, qui, suivant la concentration de la phytine ou du rouge, peuvent disparaître.

LE BLEU DE CRÉSYLE

Le bleu de crésyle exige, pour le déplacement de sa base, un pH supérieur à celui nécessaire au rouge neutre. Il vire au jaune pour un pH compris entre pH 12 et pH 12,6; mais, dès pH 11, la couleur passe du bleu au violet.

Si l'on admet que le précipité colloïde-rouge, comme le précipité colloïde-bleu de crésyle, résulte de l'union des groupements acides du colloïde avec la base du colorant, il faudrait, pour que ce précipité se produise, un pH plus élevé avec le bleu de crésyle qu'avec le rouge neutre.

En fait, nous avons remarqué que le précipité ne se forme, avec la gomme, l'albumine et le glycogène, qu'à un pH compris entre pH 11 et pH 12.

D'autre part, l'addition d'électrolytes ne provoque pas, comme avec le rouge neutre, la solubilisation du précipité formé. Il en est de même de la chaleur qui a une action à peu près nulle.

Peut-être la cause de ce fait est-elle due au pH élevé nécessaire pour produire la précipitation, ou à une différence d'état colloïdal du rouge neutre et du bleu de crésyle?

CONSIDÉRATIONS SUR CETTE ÉTUDE

1° Quelle que soit la nature du colloïde des vacuoles (tanin excepté), il ne s'y formera pas de précipité :

A. — Si les vacuoles renferment une proportion d'électrolytes trop élevée.

Remarquons, à ce sujet, qu'il ne se forme pas de précipité dans les jeunes cellules à suc vacuolaire concentré.

B. — Indépendamment de tout électrolyte, si les vacuoles renferment une proportion très faible de colloïde (hypothèse de l'albumine et du glycogène), à cause de la solubilité relative dans l'eau du complexe albumine-rouge et glycogène-rouge.

Dans l'hypothèse, au contraire, de la présence de gomme dans les vacuoles, il ne se formerait pas de précipité si la gomme était en trop forte proportion.

Reprenant l'hypothèse de l'albumine ou du glycogène comme base de la substance vacuolaire, il ne se formerait pas non plus de précipité, si le rouge était en trop forte concentration (fait déjà signalé par GUILLIERMOND).

2° Il semble qu'il soit possible d'envisager la coloration des vacuoles en deux phases :

A. — Formation du précipité colloïde-rouge.

B. — Solubilisation du précipité, soit dans un excès de colloïde (gomme), soit dans un excès de rouge (albumine, glycogène), soit dans le suc vacuolaire s'il est suffisamment concentré en électrolytes.

Expérimentalement, si l'on met en contact une goutte de solution de rouge avec une goutte de solution d'albumine à 1/10, à 1/50, à 1/100, on remarque que le diamètre moyen des granules est de plus en plus petit. Il est de 1 μ environ avec la solution d'albumine à 1/100. Avec une solution d'albumine à une concentration plus faible, le précipité peut se former et échapper à nos moyens d'observation. Si, au mélange de une goutte de rouge et d'albumine à 1/10 (granules assez gros), on ajoute un électrolyte, les granules diminuent de diamètre au fur et à mesure que la concentration augmente, jusqu'au moment où ils disparaissent complètement. Le phénomène, examiné au microscope, nous fait voir que les granules semblent éclater et se fondre en une plage, d'intensité de coloration égale à celle d'une vacuole ayant subi l'action du rouge neutre.

On est en droit de supposer que le même phénomène se passe dans les vacuoles où la présence en quantité suffisante d'électrolytes a pour effet la solubilisation du précipité au fur et à mesure de sa formation.

Comme l'a remarqué GUILLIERMOND pour certaines Levures, et comme nous-même l'avons remarqué, le précipité se dissout quelquefois plus lentement, avant que le suc vacuolaire ait pris une teinte homogène. C'est que, dans ce cas, il y a insuffisance en rouge et ce n'est que par suite de la solubilisation des fins granules non visibles, solubilisation progressive, que les plus grosses granulations, peut-être formées plus brutalement, peuvent se dissoudre alors dans un suc vacuolaire plus riche en rouge.

Ce qui semble confirmer cette façon de voir, *formation de précipité avant toute coloration*, est le fait relaté par COMBES, que l'absorption

du bleu de crésyle est ralentie lorsqu'on abaisse le pH de la solution en contact avec des cellules examinées, et augmentée lorsqu'on l'élève.

Or nous avons vu que le bleu de crésyle ne donne un précipité, avec les solutions d'albumine, qu'à un pH élevé.

3° Si l'on ne cherche quelle est la nature de la substance fondamentale des vacuoles de *Peltigera* (elles ne contiennent pas de méta-chromatine), on arrive à cette conclusion qu'il ne peut s'agir que de protéides. En effet, l'absence de précipité dans les vacuoles intensément colorées, où le rouge atteint une concentration très élevée (peut-être de l'ordre de 1/100 et même davantage), exclut la possibilité d'une présence de gomme dont le précipité avec le rouge est insoluble dans une solution de rouge.

On ne peut donc envisager que la présence de glycogène ou d'albumine. Or, la recherche du glycogène dans les Lichens hétéromères ayant été négative, reste donc seule plausible la présence d'une substance protéique.

DEUXIÈME PARTIE

MORPHOLOGIE DU SYSTÈME VACUOLAIRE DES CHAMPIGNONS DES LICHENS

Par suite de la difficulté de pénétration du rouge neutre dans certaines espèces de Lichens, nous avons été amené à étudier le rôle possible de la membrane dans cette pénétration et à en examiner la composition.

Cette question a donné lieu à de nombreuses opinions. TOBLER les résume dans son ouvrage *Biologie der Flechten*. Voici, en substance, ce qu'il écrit :

« Les Champignons des Lichens ont souvent une membrane de même composition que celle des Champignons vivant librement : cellulose à l'état jeune, chitine surtout ultérieurement. »

Cette cellulose « Pilzcellulose » : (DE BARY) est très difficile à mettre en évidence (WETTSTEIN). La présence de « callose » (MANGIN) serait douteuse. La présence de fer, au moins dans les jeunes hyphes, ne serait pas rare (Mc CALLUM). Quant aux composés pectiques, ils doivent, selon toute vraisemblance, faire défaut. La chitine existerait, même en grande quantité, dans certaines espèces. Dans d'autres elle serait localisée et existerait en moindre proportion (CZAPEK, WETTSTEIN). La présence de lignine, mise en doute par TOBLER, écrit-il, a été signalée dans *Cetraria islandica* (SCHELLENBERG).

Il existe d'autres substances, résultant de modifications subies par la cellulose originelle et particulières à certaines espèces.

L'*usnéine* (VAN WISSELINGH), *usnine* de VON ULANDER, se trouve dans les hyphes âgés d'*Usnea*. L'*éverniine* existe dans *Evernia prunastri*, la lichénine et l'isolichénine dans *Edraria*. Toutes ces substances se distinguent les unes des autres par leurs réactions de coloration avec l'iode, leur manière de se comporter avec l'eau à froid et à chaud, leur action sur la lumière polarisée. Elles se distinguent de la cellulose et de la chitine par leur solubilité dans la glycérine à 300°.

TOBLER rappelle également les travaux de MÜLLER qui indique la présence, dans la membrane des Lichens, d'hémicelluloses.

Pour compléter ce résumé, extrait de TOBLER, nous exposerons d'autres opinions.

ULANDER conclut à la présence exclusive des hémicelluloses, dans la membrane des hyphes des Lichens. Il nie l'existence, même possible, de la chitine.

NIENBURG, dans son *Anatomie der Flechten*, indique, par contre, la cellulose, puis la chitine, comme formant la base de la membrane des Lichens.

Il faut citer également le nom de ZOPF, qui a étudié d'une façon remarquable les acides lichéniques, particuliers aux Lichens. Ces acides peuvent se trouver dans et sur la membrane de nombreuses espèces de Lichens.

MANGIN parle également de la membrane des Lichens dans son travail sur la callose (mise en doute par TOBLER).

« Dans le mycélium des Lichens, dit-il, la callose présente une plus grande résistance à l'action des dissolvants et fixe difficilement les réactifs colorants. »

D'après cet aperçu, il est difficile d'avoir une idée précise sur la composition de la membrane. Pour chacune des espèces étudiées, nous avons établi une suite de réactions semblables qui, sans prétendre établir d'une façon définitive la nature de la membrane des hyphes des Lichens, nous a permis de comparer le rapport de cette membrane avec la pénétration du rouge neutre.

PELTIGÉRACÉES : *PELTIGERA CANINA* (HOFFM.)

P. canina, de couleur noirâtre à l'état frais, passe progressivement au gris perle à l'état sec.

Au point de vue anatomique, il y a lieu de distinguer :

1° un cortex supérieur formé de cellules sensiblement isodiamétriques, présentant l'aspect d'un tissu parenchymateux (paraplectenchyme, MOREAU). Ce cortex porte des poils plus ou moins ramifiés;

2° une couche gonidiale à *Nostoc* ;

3° une médulle formée d'hyphes enchevêtrés;

4° les « rhizines », formées d'un paquet d'hyphes non ramifiées. Ces rhizines sont fixées au substratum par leur extrémité inférieure (HARMAND).

Étude de la membrane

ACTION DES HYPOCHLORITES : attaquent la membrane et la dissolvent plus ou moins suivant leur degré chlorométrique.

Le chlore, seul, ne produit qu'un fort gonflement. Ce gonflement est suivi d'une dissolution après addition d'une solution de $\text{CO}_3 \text{Na}^2$ à 40 % (action comparable à celle du brome sur la callose).

RÉACTIF DE SCHWEITZER ET AMMONIAQUE : sans action.

ACIDE AZOTIQUE : produit le gonflement de la membrane à froid et à faible concentration, la dissout à forte concentration (plus rapidement à chaud).

CARBONATE DE SOUDE à 1/10 : sans action à froid, produit à chaud le gonflement de la membrane.

BROME : action comparable à celle du chlore. Comme particularité colore en rouge orangé vif les apothécies.

CHLORAL à 50 % : sans action.

GLYCÉRINE à 290° (ébullition, très voisine de 300°). Au bout d'une heure d'ébullition, des fragments entiers de *Peltigera* ont à peu près complètement disparu. Il ne persiste que quelques minces lambeaux pelliculaires, qui se dissolvent immédiatement et complètement dans la potasse à 50 %.

IODE : aucune coloration de la membrane des hyphes.

CHLOROIODURE DE ZINC : produit, sans coloration persistante, le gonflement de la membrane des hyphes.

RÉACTIONS DE COLORATION : la phloroglucine chlorhydrique, le rouge de ruthenium, le carmin aluné, le vert à l'iode, ne donnent aucune coloration. La deltapurpurine, le rouge congo, colorent la membrane en rouge vif. Cette coloration persiste dans la glycérine, durant 24 heures.

RÉSUBLEU (solution ammoniacale de résorcine suivant la technique de Tunmann) : coloration bleu-ciel de la membrane. La coloration disparaît rapidement dans la glycérine.

BLEU COTON C4B : aucune coloration de la membrane, ni en solution acétique à 3 %, ni en solution dans l'acide lactique concentré. Mais si les coupes ont été, au préalable, traitées 24 heures par la potasse en solution aqueuse à 50 %, les membranes des hyphes retiennent fortement le colorant, même après un séjour de 24 heures dans la glycérine.

CHITINE : la présence de chitine a été signalée par ESCOMBE (cf. TOBLER) dans *Peltigera*. Nous l'avons recherchée par la méthode de VAN WISSELINGH (cf. TUNMANN), complétée par la recherche des cristaux d'azotate de chitosane, et nous avons obtenu un résultat positif.

ACIDES LICHÉNIQUES : leur présence dans *Peltigera* n'a jamais été mise en évidence par aucun expérimentateur (ZOFF).

ACIDITÉ DE LA MEMBRANE : cette acidité, déterminée par les indicateurs colorés (1), est peu différente de la neutralité (comprise entre pH 6,6 et pH 7).

CONCLUSION : il faut éliminer la présence de cellulose, de lignine, de composés pectiques, de lichénine. La présence de chitine semble nette, mais la base de cette membrane serait une callose assez condensée, callose définie par ses réactions de coloration et son comportement vis-à-vis des divers agents chimiques.

Le système vacuolaire à l'état d'humidité.

RHIZINES

Lorsqu'on place un fragment de thalle de *Peltigera* dans une solution de rouge neutre, on remarque que, presque immédiatement, les rhizines et les grosses « veines » de la face inférieure se teintent en rouge, les mailles du réseau restant incolores. Ceci permet de supposer le rôle absorbant possible de cette partie du thalle. Si l'on dissèque les rhizines humides dans une goutte de rouge neutre à 1/5.000, et qu'on les examine, on remarque que l'intérieur prend une teinte rose diffuse, qui, au bout de quelques minutes, se délimite en vacuoles, d'aspect sphérique pour la plupart (fig. 1, pl. XV). Quelquefois, suivant l'état du thalle, on assiste à l'apparition de granulations qui disparaissent, en s'estompant dans le liquide vacuolaire. Les sphérules vacuolaires augmentent d'intensité de coloration et finalement prennent une teinte rouge-orangé métachromatique. Si on lute la préparation, au bout de 24 ou 48 heures, apparaissent dans beaucoup de sphérules des granulations mobiles qui semblent avoir concentré tout le colorant, le reste de la sphérule étant en partie ou en totalité décoloré.

Très petites en certains endroits, particulièrement à l'extrémité des rhizines, les sphérules sont beaucoup plus grandes dans le corps même de la cellule, où elles résultent souvent de la fusion de sphérules plus petites (fig. 1, pl. XV).

Quelquefois, ces sphérules sont allongées dans le sens de l'hyphe, ou serrées les unes contre les autres et déformées.

(1) L'examen des coupes placées dans une goutte d'indicateur coloré ne permet pas de se rendre compte exactement du pH de la membrane. Il est préférable de laisser la solution colorante s'évaporer, et d'examiner ensuite les coupes, dans une goutte d'huile de vaseline neutre.

Nous avons apprécié les couleurs observées d'après l'échelle de teintes de Kuhlmann.

MÉDULLE

Dans l'ensemble, les sphérules sont plus grandes et plus allongées que dans les rhizines, surtout dans les « veines » de la face inférieure (fig 2, pl. XIV). L'absorption du rouge, pour les hyphes qui constituent les mailles du réseau, est plus difficile et grandement facilitée par une immersion préalable dans une solution de $\text{CO}_3 \text{Na}^2$ à 0,50 % (10 minutes).

COUCHE GONIDIALE

Les cellules de la couche gonidiale, contiguës aux Algues, sont petites et caractérisées par la coloration très intense de leurs sphérules vacuolaires, ce qui indique une forte concentration en métachromatine (fig. 5, pl. XIV).

CORTEX ET POILS DU CORTEX

Dans le cortex, les sphérules sont étroitement serrées les unes contre les autres et ne laissent entre elles qu'une mince couche protoplasmique (fig. 4, pl. XV). Dans les poils du cortex, les sphérules sont tantôt uniques, tantôt nombreuses, avec ou sans précipité vacuolaire (fig. 3, pl. XV).

Le système vacuolaire à l'état sec

RHIZINES

Il est nécessaire, pour obtenir la coloration du système vacuolaire, d'employer une solution très étendue de rouge. Autrement, par l'emploi d'une solution relativement concentrée, à 1/1.000 par exemple, il semble que le protoplasma soit incapable de réagir à l'action d'une substance qu'il adsorbe fortement, à cause de son état de dessiccation. A une dilution plus grande (1/20.000 par exemple), l'hydratation du protoplasma desséché précède l'adsorption du colorant, ou tout au moins marche de pair avec elle, et l'on assiste à la transformation de granulations vacuolaires, en petites puis en grosses sphérules. Il semble intéressant de noter que les hyphes de la partie centrale des rhizines ont des vacuoles qui, sous l'action du rouge, présentent d'emblée la forme « grosse sphérule », ce qui correspond à un degré moindre de dessiccation.

CORTEX ET MÉDULLE

Ces deux parties du thalle desséché, ont des vacuoles qui apparaissent immédiatement, sous forme de sphérules, même avec une solution de rouge à 1/5.000. Ceci semble indiquer qu'elles conservent davantage l'humidité que les rhizines à membrane moins épaisse.

Si l'on maintient le thalle à la température de 45° durant 10 heures (température supportée pendant les chaudes journées d'été), on constate que le thalle recueilli depuis trois semaines et sec, par conséquent, ne perd que le dixième de son poids. L'aspect des vacuoles est sensiblement le même que ci-dessus. L'adsorption de la solution de rouge est facilitée par l'immersion préalable dans une solution de $\text{CO}_3 \text{Na}^2$ à 1/1.000.

PHYSICIACÉES : *XANTHORIA PARIÉTINA* (ACHAR.)

Étude de la membrane

Cette étude a été faite, en suivant la même marche que pour *Peltigera*. Nous nous bornerons, pour *Xanthoria*, comme pour les espèces suivantes, à en faire connaître les conclusions. Si l'on compare les propriétés de la membrane des hyphes de *Xanthoria* avec celle des hyphes de *Peltigera*, on remarque un certain nombre de points communs :

Deux points cependant semblent les distinguer :

1° absence de chitine dans *Xanthoria* ;

2° différence de résistance vis-à-vis de certains agents chimiques et comportement quelque peu différent vis-à-vis des réactifs de coloration de la callose, différences qui permettraient de supposer que la callose se trouve, dans *Xanthoria*, dans un état de condensation plus élevé que dans *Peltigera*.

La pariétine, acide lichénique de *Xanthoria* (ZOPF), paraît localisée sur le cortex supérieur, mais non spécialement sur la membrane des hyphes.

Le système vacuolaire à l'état hydraté

Dans les deux cortex, supérieur et inférieur, les cellules présentent une cavité cellulaire plus étroite que *Peltigera*. Le rouge neutre n'y met, en général, en évidence qu'une sphérule. Dans les cellules les plus grandes, il peut cependant se trouver 2, 3 ou 4 sphérules. Ces sphérules sont le plus souvent d'une intensité de coloration supérieure à celle de *Peltigera* (teneur plus grande en métachromatine) et ne renferment pas de précipité vacuolaire (teneur en électrolytes plus élevée) (fig. 6, pl. XV).

De fait, *Xanthoria* est un Lichen plus héliophile que *Peltigera* et son suc cellulaire doit être plus concentré que celui de ce dernier.

Dans la médulle, il ne se forme pas davantage de précipité vacuolaire. Les vacuoles, en sus de la forme sphérule, peuvent également prendre une forme plus allongée, ovoïde ou losangique ou la forme d'haltères (fig. 7, pl. XV).

SYSTÈME VACUOLAIRE A L'ÉTAT SEC.

Dans le thalle desséché, récolté depuis plusieurs jours, le rouge pénètre assez facilement dans le cortex comme dans la médulle et met en évidence des sphérules vacuolaires qui, d'abord très petites, fusionnent entre elles et donnent naissance à de grosses sphérules.

Le rouge, même à 1/1.000, permet la coloration d'un grand nombre de cellules, ce qui indique la grande vitalité du protoplasma. Notons que le traitement préalable par $\text{CO}_3 \text{Na}^2$ à 0,50 pour mille, avant l'action du rouge à 1/5.000, provoque l'apparition d'un précipité vacuolaire. Peut-être faut-il voir là une action favorisante des alcalis pour le gonflement et l'hydratation des micelles (Cf. expérience décrite pour la gélatine dans OTSWALD).

PARMÉLIACÉES : *PARMELIA ACETABULUM* (DUBY)Étude de la membrane

Il semble que la membrane y soit composée, à l'exclusion de chitine, de callose moins condensée et plus facilement attaquable par les divers réactifs utilisés.

Une autre particularité est celle de l'acidité de la membrane, de pH 4 environ.

Système vacuolaire

La coloration en est très longue et demande plusieurs heures. Elle est favorisée par l'immersion préalable dans le carbonate de soude à 1/1.000.

Dans le cortex, il n'y a qu'une ou deux sphérules par cellule; la cavité cellulaire est très étroite. Il n'y a, pour ainsi dire, pas de précipité vacuolaire.

Rien de particulier dans la couche gonidiale : cellules contiguës aux Algues, courtes, avec une ou deux vacuoles intensément colorées par le rouge neutre (fig. 1, pl. XIV).

Dans la médulle la cavité cellulaire est très étroite: le système vacuolaire se réduit à 2 ou 3 vacuoles presque punctiformes, rarement plus importantes, avec précipité vacuolaire. A l'état desséché et en utilisant le carbonate de soude, pour une immersion préalable, on met en évidence, avec le rouge à 1/5.000, le système vacuolaire sous forme de granulations qui peu à peu se transforment en sphérules.

CLADONIÉES : *CLADONIA RANGIFERINA* (ACHARIUS)Étude de la membrane

D'après ULANDER, la majeure partie de la membrane de *Cladonia* serait formée de mannane. De fait, nous trouvons des différences assez marquées avec les Lichens précédents. L'action des hypochlorites,

de l'acide azotique, de la potasse, est beaucoup moins prononcée. Le bleu coton ne donne aucune coloration après action de la potasse. D'un autre côté, sans être aussi affirmatif que ULANDER qui nie la présence de chitine dans *Cladonia*, il faut reconnaître que la chitine, si elle existe, n'existe qu'en minime quantité. Sous cette réserve, nous admettrons les conclusions de ULANDER.

Remarquons également, sans tirer de ce fait aucune conclusion, que la membrane de *Cladonia* fixe le rouge du ruthenium. L'acidité de la membrane est légèrement supérieure à pH 6.

Système vacuolaire

La mise en évidence est facilitée par l'immersion préalable dans le carbonate de soude à 1/1.000.

Les vacuoles offrent la forme de sphérules, d'organes ovoïdes ou très allongés, communiquant parfois avec les vacuoles voisines par de minces filaments (fig. 2, pl. 14).

Ces vacuoles existent aussi bien dans les hyphes gonidiaux que dans la partie intérieure chondroïde : ce qui porterait à croire que cette partie n'a pas seulement un rôle de soutien, mais est également susceptible d'échanges cellulaires.

A l'état desséché, le système vacuolaire est formé de granulations à peu près sphériques ou anguleuses, quelquefois allongées en courts filaments.

ÉVERNIEES : *EVERNIA PRUNASTRI* (ACHARIUS)

Étude de la membrane

D'après ULANDER, la membrane d'*Evernia* serait formée d'hémicelluloses, pentosanes, méthylpentosanes et d'évernine (substance qu'il considère comme intermédiaire entre les hemicelluloses et le glucose). Cette évernine serait, du reste, en très petite quantité (40 gr. pour 1.500 gr. de thalle). Il faut remarquer qu'il y a en plus une différence entre les hyphes du cortex et de la médulle. Ceux-ci, en effet, paraissent résister à l'action de la potasse à 25 %, tandis que les premiers sont, au contraire, détruits au bout de quelques heures.

Les hyphes de la médulle retenant faiblement le bleu coton, le rouge Congo, la déltapurpurine, renfermeraient peut-être une petite quantité de callose.

Système vacuolaire

La pénétration du rouge est très lente et il faut un contact de 24 heures avec une solution de rouge à 1/5.000, pour obtenir la coloration de quelques vacuoles. Et, là encore, la différence de nature de la membrane des hyphes du cortex et de la médulle se manifeste : la membrane des premiers prend, sous l'influence du rouge neutre, une

coloration rouge orangé, tandis que la membrane des derniers reste incolore.

Les vacuoles se présentent sous la forme de sphérules ou de granulations, suivant leur état d'hydratation. Le carbonate de soude exerce également une action favorable pour la pénétration du rouge neutre (fig. 3, pl. XIV).

LÉCANORÉES : *SQUAMARIA SAXICOLA* (NYLANDER)

Étude de la membrane

La présence de la callose et de la chitine en coexistence paraît bien nette. En considération du résidu restant, après l'action de la glycérine à l'ébullition, il semblerait que la proportion de chitine serait plus grande que pour *Peltigera*. Cette chitine résiste à l'action des hypochlorites faibles, mais est solubilisée dans l'eau de Javel (12°).

Les fragments traités par les hypochlorites faibles, puis par la potasse à 50 %, ne retiennent plus le bleu coton, sans doute par suite de la solubilisation de la callose.

Système vacuolaire

Le rouge neutre pénètre assez facilement. Les vacuoles présentent le même aspect que celui des vacuoles des espèces précédentes (fig. 4, pl. XIV).

COLLÉMACÉES : *COLLEMA PULPOSUM* (ACHARIUS)

En opposition avec les Lichens étudiés ci-dessus, *Collema* est un Lichen homéomère.

Étude de la membrane

La présence de chitine a été constatée. A cause de la fragilité des tissus, il est préférable pour sa recherche d'utiliser la modification préconisée par VOUK (cf. TUNMANN).

La callose semble exister dans le même état de condensation que dans *Peltigera*. Remarquons à ce propos que les deux espèces de thalle possèdent, comme constituant algal, une Cyanophycée.

Système vacuolaire

A l'état d'humidité, les vacuoles apparaissent sous forme de sphérules plus ou moins régulières, quelquefois déformées par pression réciproque. Leur coloration par le rouge neutre est très rapide. Il se produit souvent, avant toute coloration homogène, comme pour *Peltigera*, des granulations intra-vacuolaires qui se dissolvent ultérieurement. Cela n'a rien de surprenant, eu égard à la forte quantité d'eau que ces Lichens renferment (fig. 5, pl. XIV).

Pour observer l'état du système vacuolaire à l'état desséché, on ne peut utiliser le procédé habituel (observation, dans le rouge neutre, d'une coupe faite dans du matériel desséché) tant est rapide et presque

instantanée l'hydratation des vacuoles. Il est préférable d'observer les phases de la dessiccation sur une coupe placée dans une goutte de rouge neutre.

Les vacuoles sphériques se déforment, s'aplatissent, prennent une forme tendant vers l'hémisphère et se rassemblent, en se pressant les uns contre les autres aux deux extrémités de la cellule. A un état plus avancé de dessiccation, c'est un amas de granulations qui semble les coiffer (fig. 5, pl. XIV).

Si l'on ajoute une goutte d'eau, la cellule reprend immédiatement sa turgescence.

CONCLUSIONS

1° SUR LA NATURE DE LA MEMBRANE.

Les réactifs employés agissent, pour la plupart, dans le même sens, mais avec des différences dans leur intensité.

Il n'a pas été trouvé de *cellulose*, dans aucune espèce examinée, en plein développement.

La *callose* définie histologiquement par la coloration au bleu coton, après action de la potasse, a été trouvée, à état variable de condensation, dans *Peltigera*, *Xanthoria*, *Parmelia*, *Collema*, *Squamaria*, et *Evernia* (en faible quantité dans ce dernier).

Les *hémicelluloses* semblent former la majeure partie de *Cladonia* et d'*Evernia*.

La *chitine*, semble exister en très petite quantité dans *Peltigera* et dans *Collema*, en quantité supérieure dans *Cladonia*, et ne se trouve pas dans *Xanthoria*, *Evernia*, *Parmelia*.

Il n'a pas été trouvé de lichénine, dans aucune de ces espèces. L'acidité est, en général, comprise entre pH 6 et pH 7, excepté pour *Parmelia*, pH 4.

2° SUR L'INFLUENCE DE LA NATURE DE LA MEMBRANE

POUR LA PÉNÉTRATION DU ROUGE NEUTRE.

1° L'état d'humidité de la membrane favorise la pénétration de la solution de rouge;

2° la pénétration est plus lente pour les membranes à hémicelluloses (*Cladonia*, *Evernia*), ou à plus forte acidité (*Parmelia*). L'immersion préalable dans une solution de carbonate de soude favorise la pénétration du rouge;

3° l'épaisseur de la membrane ne semble pas jouer un rôle essentiel.

3° SUR LA MORPHOLOGIE DU SYSTÈME VACUOLAIRE.

Le système vacuolaire se présente, à l'état frais, sous l'aspect de vacuoles sphériques ou allongées dans le sens de l'hyphe; dans ce dernier cas, elles sont quelquefois étranglées.

Ces vacuoles sont espacées ou serrées les unes contre les autres. La métagiromasie est la règle. La formation d'un précipité vacuolaire est sous la dépendance des espèces étudiées et de l'état aqueux de la cellule.

A l'état sec, le système vacuolaire se réduit à des granulations réparties dans la cavité cellulaire, généralement, ou à ses deux extrémités (*Collema*). Une dessiccation supplémentaire de plusieurs heures à 40-45°, ne paraît pas faire subir de modifications importantes à l'ensemble du système vacuolaire.

Si nous comparons ces résultats à ceux obtenus par A. DE PUYMALY avec les Algues vertes aériennes, nous constaterons un certain nombre de points communs.

Tout d'abord, « si le vacuome des Chlorophycées aériennes est extrêmement réduit, écrit DE PUYMALY, ... les vacuoles ne manquent jamais ». Il en est de même dans les hyphes des Lichens. Dans un cas comme dans l'autre, les vacuoles affectent, le plus souvent, la forme sphérique, et ont été décollées dans un matériel frais comme dans un matériel desséché.

A. DE PUYMALY fait, de la constance des vacuoles en nombre, en distribution, en dimensions, un caractère de diagnose, utile au même titre que la forme et la position du chromatophore. Or, dans les Lichens, nous trouvons tout au moins une constance approchée. La régularité de distribution est même, dans *Collema* desséché, poussée assez loin.

Le rôle de l'hydratation dans la morphologie du vacuome des Algues est également indiqué par DE PUYMALY, quand il compare les dimensions des vacuoles ayant subi plus ou moins longtemps l'action du bain colorant. Il en est de même du rôle de la membrane.

Dans les Lichens comme dans les Algues aériennes, nous retrouvons également la même intensité de coloration du vacuome par le rouge neutre (forte teneur en colloïde).

Même concentration également du suc cellulaire, caractérisée dans les Algues aériennes, grâce à la méthode de plasmolyse, et plus simplement par nous, dans les Lichens, par l'absence fréquente de précipité vacuolaire, dans des vacuoles intensément colorées.

Et nous concluons, comme DE PUYMALY, au sujet de la forme et de la forte teneur en colloïde des vacuoles des Lichens, qui ont même substratum que les Algues aériennes et vivent dans le même milieu : « ... Cette structure n'est donc pas spéciale, écrit-il, aux Algues que nous étudions. Elle nous paraît cependant la plus compatible avec les conditions de la vie aérienne et c'est grâce à elle, semble-t-il, que ces Algues peuvent conquérir une tension osmotique élevée et par suite lutter contre l'action desséchante du milieu aérien, auquel elles peuvent plus facilement s'adapter... ».

BIBLIOGRAPHIE

- BÜNGENBERG DE JONG (H.-G.). — La Coacervation. Les Coacervats *Actualités scientifiques et industrielles*, 397, Hermann et C^{ie}, Paris, 1937.
- COMBES (R.). — La vie de la Cellule végétale, T. II, Alcan, éd., 1929.
- DE PUYMALY (A.). — Thèse Sciences, Paris, 1924.
- GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — Traité de Cytologie végétale. Le François, éd., 1933.
- HARMAND (J.). — Les Lichens de France. Catalogue systématique et descriptif. 5 volumes. Épinal, 1905 et années suivantes.
- MANGIN (L.). — Sur les réactifs colorants des substances fondamentales de la membrane. C. R. Acad. Sc., 1890.
- MOREAU (F.). — Les Lichens. Morphologie, Biologie, Systématique. Le Chevalier, éd., Paris, 1928.
- NIENBURG (W.). — Anatomie der Flechten. Berlin, 1926.
- OSTWALD (Wo.). — Manipulations de Chimie colloïdale. Traduction française par E. VELLINGER, Gauthier-Villars, éditeur.
- TOBLER (F.). — Biologie der Flechten. Berlin, 1925.
- TUNMANN (O.). — Pflanzen, Mikrochemie. Berlin, 1931.
- ULANDER (F.). — Untersuchungen über die Kohlenhydrate der Flechten. *Göttingen Diss.*, 1905.
- WETTSTEIN (F.). — Das Vorkommen von Chitin und seine Verwertung als systematisch-phylogenetisch Merkmal im Pflanzenreich. *Sitzber. d. Akad. d. Wissen, Wien*, 1921.
- ZOPF (W.). — Die Flechtenstoffe. Iéna, 1907.
-

EXPLICATION DES PLANCHES

(Gross. 1200 env. Coloration vitale).

PLANCHE XIV

- FIG. 1. — Rhizines de *Peltigera canina* à différents degrés d'hydratation.
- FIG. 2. — Médulle : hyphes à membrane mince et épaisse.
- FIG. 3. — Cellules terminales d'un poil du cortex.
- FIG. 4. — Cellules du cortex.
- FIG. 5. — Cellules contiguës à l'Algue.
- FIG. 6 et 7. — *Xanthoria parietina* : cortex et médulle.

PLANCHE XV

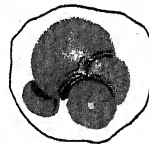
- FIG. 1. — *Parmelia acetabulum* : médulle et hyphes gonidiaux.
- FIG. 2. — *Cladonia rangiferina* : hyphes de la médulle.
- FIG. 3. — *Evernia prunastri* : hyphes médullaires et cellules contiguës à l'Algue.
- FIG. 4. — *Squamaria saxicola* : hyphe de la médulle, cellules du cortex cellule gonidiale.
- FIG. 5. — *Collema pulposum* : hyphes à l'état humide et desséché.



1



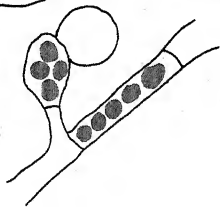
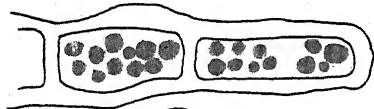
2



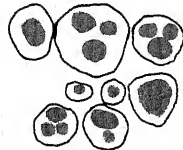
4



3



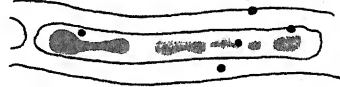
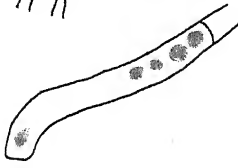
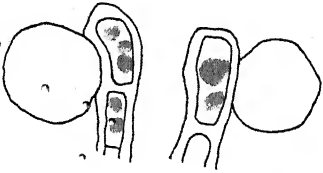
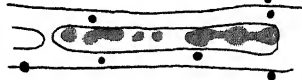
5



6

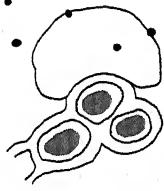
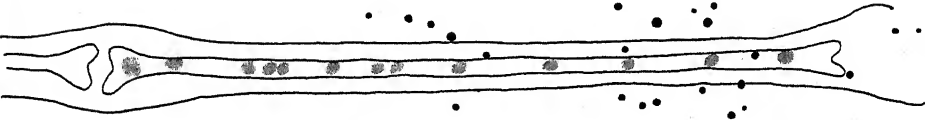


7



1

2.



3



4

5



REVUE DE CYTOLOGIE ET DE CYTOPHYSIOLOGIE VÉGÉTALES

Action de la colchicine et du chloral sur la racine de *Vicia Faba*

PAR

M. R. GARRIGUES
(mémoire reçu le 23 août 1939)

SOMMAIRE

	PAGES
INTRODUCTION.....	262
MATÉRIEL ET TECHNIQUES.....	262
EFFETS DE LA COLCHICINE : L'APPAREIL RADICULAIRE NORMAL ET COLCHICINÉ.....	265
EFFETS DE LA COLCHICINE : LA STATHMOCINÈSE DANS LE MÉRIS- TÈME INITIAL.....	267
EFFETS DE LA COLCHICINE : LA STATHMOCINÈSE DANS LES ÉBAUCHES RADICELLAIRES.....	277
EFFETS DE LA COLCHICINE SUR LE CHONDRIOME ET LA DIFFÉREN- CIATION DES CELLULES.....	279
EFFETS DU CHLORAL : ACTION PROLONGÉE.....	281
Morphologie de l'appareil radiculaire.....	281
Noyaux quiescents et mitose.....	283
Chondriome.....	285
EFFETS DU CHLORAL : TRAITEMENTS BREFS.....	285
Traitements de six heures.....	287
Chloral à 0,5 %.....	287
Chloral à 1 %.....	290
Traitements de douze heures.....	292
Chloral à 0,5 %.....	292
Chloral à 1 %.....	293
Traitements de vingt-quatre heures.....	294
CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.....	295
Ressemblances et différences entre les actions de la colchicine et du chloral.....	295
Traits essentiels de l'action de la colchicine.....	296
CONCLUSIONS.....	298
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	299
EXPLICATION DES PLANCHES.....	300

INTRODUCTION

La colchicine est, actuellement, l'objet de nombreux travaux, mais les divers mémoires publiés jusqu'à maintenant n'ont pas encore permis d'avoir une idée complète de son action.

On sait que la colchicine agit sur le mécanisme de la mitose et, provoquant des redoublements successifs du nombre des chromosomes, aboutit à constituer des noyaux tétraploïdes. On a utilisé cette propriété pour obtenir, dans certaines conditions et avec des concentrations appropriées, des plantes tétraploïdes.

La formation de ces noyaux s'explique, pour les divers auteurs ayant étudié l'action de la colchicine, uniquement par le fait que l'alcaloïde empêchant (inhibition du fuseau) la séparation des chromosomes clivés à la prophase, les 4 n chromatides subissent côte à côte les transformations télophasiques.

Enfin, l'étude du chondriome des cellules colchicinées n'a encore fait l'objet d'aucun mémoire.

D'autre part, les descriptions faites de l'action du chloral indiquent, à côté de diverses irrégularités de la mitose, la présence, dans les racines traitées, de gros noyaux.

Ces deux actions ont été souvent comparées. Ces comparaisons sont-elles justifiées ? Il était intéressant de reprendre l'étude comparative des effets produits par ces deux substances sur un même objet. Nous avons choisi la racine de *Vicia Faba* (1).

M. le Professeur MANGENOT a bien voulu nous confier ce sujet d'études et nous guider dans nos recherches. Nous sommes heureux de lui exprimer toute notre reconnaissance.

Nous adressons aussi nos remerciements à M^{lle} GERTRUDE, auprès de qui nous avons toujours trouvé un aimable accueil.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Technique des cultures et administration des produits actifs. — LES VASES DE CULTURE. — Des graines de *Vicia Faba* (Fève grosse des marais-Vilmorin) sont mises à germer à l'étuve (20-25°), sur du papier buvard humide, dans des boîtes de Pétri. Environ 4 à 5 jours après, les racines atteignent 1,5 cm. à 2 cm. Les cotylédons sont alors débarrassés de leur tégument et les racines, toujours attachées à la plantule;

(1) Les connaissances actuelles sur les effets produits par la colchicine sont résumées dans les récentes monographies de FYFE, pour les cellules végétales, et de DUSTIN, pour les cellules animales; — celles relatives aux effets produits par le chloral sont résumées dans le mémoire de VAN REGEMORTER (cf. aussi GAVAUDAN).

sont plongées dans des solutions de colchicine ou de chloral, contenues dans des tubes de verre, droits ou présentant un étranglement dans leur partie médiane. Les cultures sont ensuite abandonnées à la température du laboratoire (18°).

LES SOLUTIONS. — Elles ont été préparées avec du liquide de Knop dilué de moitié. Les concentrations employées ont été les suivantes :

pour la colchicine : 1/200; 1/1.000; 1/2.000; 1/4.000.

pour le chloral : 1/100; 1/200; 1/400;

l'expérience a montré que les concentrations de 1/2.000 pour la colchicine (0,05 %; approximativement M/1.000) et 1/100 ou 1/200 (approximativement M/15 et M/30), étaient voisines du seuil d'efficacité.

Enfin, des racines de *Vicia Faba* croissant sur du liquide de Knop à 50 % servaient de témoins.

LE PROTOCOLE DES EXPÉRIENCES. — Nous avons d'abord étudié l'action de la colchicine sur les noyaux des méristèmes et des ébauches radicellaires, puis sur le chondriome et la différenciation des éléments cellulaires. Dans cette série d'expériences, les plantules séjournent dans le milieu colchiciné pendant une huitaine de jours. Toutes les 24 heures, nous prélevons une racine que nous fixons et colorons après avoir noté son aspect, sa croissance, ainsi que l'apparition des radicelles s'il y a lieu.

Nous avons abordé ensuite l'action du chloral et, ici, nous avons fait deux séries d'expériences :

1° La première série est identique à celle de la colchicine : les racines restent plongées dans le milieu chloralisé. Elles sont prélevées, après avoir noté leurs caractéristiques, chaque 24 heures.

2° Dans la deuxième série d'expériences, les racines sont reportées sur un milieu normal (Knop), après un court séjour (6 heures, 12 heures, 24 heures) dans la solution d'hydrate de chloral. Nous les prélevons après 1, 6, 18 et 24 heures de séjour dans la solution de Knop et, ensuite, de 24 en 24 heures.

Les fixations et les colorations. — Nous avons employé le plus souvent le Helly (sublimé-formol-bichromate) comme fixateur. Les coupes sont ensuite colorées suivant la technique de Feulgen-Rossenbeck.

Nous avons utilisé aussi le fixateur de Navachine, les coupes étant ensuite traitées à l'hématoxyline ferrique.

Pour l'étude du chondriome, nous nous sommes servis du fixateur de Regaud (bichromate-formol).

La numération des noyaux aux divers stades cinétiques. — Il était nécessaire, pour avoir une idée exacte des modifications apportées à la cinèse par l'action colchicinique, de procéder à des statistiques.

La méthode suivie peut se décomposer en deux temps :

1^o Projection d'une coupe axiale sur une feuille de papier blanc à un faible grossissement. Nous obtenons ainsi l'image, plus ou moins précise quant à leur stade mitotique, mais suffisamment nette quant aux contours, de tous les noyaux. Nous marquons l'emplacement de chacun en dessinant son profil. Nous obtenons donc un dessin exact du méristème.

2^o Nous reprenons ensuite la même coupe à un fort grossissement. Nous précisons alors sur le dessin, noyau par noyau, l'état quiescent ou la phase mitotique de ceux-ci.

Il suffit alors de compter le nombre de figures correspondant à chaque phase et de calculer les pourcentages.

Journellement, enfin, nous avons mesuré, dans la zone méristématique, les dimensions nucléaires.

* * *

Nous indiquerons dès maintenant que le diamètre des noyaux quiescents des racines normales de *Vicia Faba* est de l'ordre de 8 à 10 μ .

Nos observations montrent que, d'une façon générale, l'activité mitotique suit une courbe ascendante dans les premiers jours et se maintient sensiblement ou décroît très légèrement plus tard. Le pourcentage des noyaux au repos est extrêmement élevé; celui des pro-phases s'explique facilement, car c'est le stade le plus long de la division.

On ne peut dire que d'un jour à l'autre il y ait de très grandes modifications. Un certain nombre, assez faible, de noyaux se divise chaque jour, mais la grande majorité reste au repos pendant le même laps de temps.

Des statistiques faites avec quelques-unes des racines servant de témoins et cultivées sur Knop nous ont donné les résultats suivants :

Stades mitotiques	1 ^{er} jour de Knop	4 ^e jour de Knop	7 ^e jour de Knop
Noyaux quiescents.....	95,5 %	88,5 %	90,4 %
Prophases.....	2,9 %	6,5 %	5,8 %
Métaphases.....	0,7 %	1,1 %	0,8 %
Anaphases.....	0,2 %	1,6 %	0,9 %
Télophases.....	0,5 %	2,2 %	1,8 %

LES EFFETS DE LA COLCHICINE
MORPHOLOGIE DE L'APPAREIL RADICULAIRE NORMAL
ET COLCHICINÉ

Ce sont surtout les racines ayant subi l'action de la colchicine à la concentration de 1/2.000 que nous avons étudiées.

24 HEURES. — Après un séjour de 24 heures dans le milieu colchiciné, les racines se sont peu allongées : 1,5 mm à 2 mm, alors que l'on note un accroissement de 3 mm à 10 mm pour les racines témoins.

Parmi les racines colchicinées, un nombre très restreint présente la tuméfaction subterminale (fig. 1, 1) qui caractérise extérieurement, dans les jours suivants, l'action colchicinique. Ce renflement, dont l'épaisseur et la longueur suivant l'axe de la racine sont variables, nous intéresse que la région subterminale (fig. 1, 2).

Il n'y a ni radicelles, ni mamelons radicellaires visibles.

48 HEURES. — A ce moment, les racines présentent toutes le renflement subterminal (fig. 1, 2). Cet épaississement, variable suivant la racine, tant dans sa forme que dans sa longueur, se montre grossièrement semblable à une massue. Les racines, dans leur ensemble, paraissent plus épaisses que les racines ordinaires.

L'elongation, toujours faible (entre 1 mm et 3 mm), est très inférieure à celle d'une racine témoin.

Enfin, les radicelles ou les mamelons radicellaires n'ont encore pas fait leur apparition.

72 HEURES. — Au troisième jour les racines cultivées sur colchicine continuent leur croissance, mais toujours faiblement. Celle-ci se traduit par un allongement de 2 mm au maximum. Elles sont beaucoup plus courtes que les racines témoins qui présentent une elongation de l'ordre du centimètre.

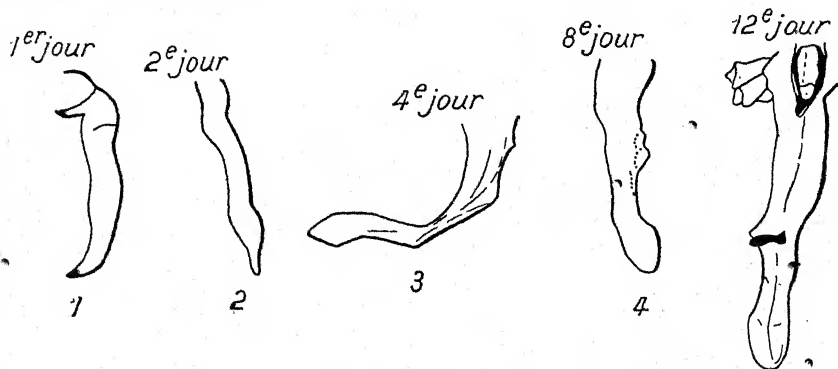


FIG. 1. — Silhouettes des racines de *Vicia Faba* après un, deux, quatre, huit et douze jours de traitement par du liquide de Knop à 1/2 colchiciné à 1/2.000.

Dans son aspect général, la racine colchicinée est plus épaisse que celle sur Knop et la tuméfaction subterminale paraît s'étendre vers la pointe de la racine.

L'axe hypocotylé subit lui aussi l'épaississement général.

On ne note pas encore la présence de radicules.

96 HEURES. — Au bout du 4^e jour, la croissance des racines se poursuit faiblement pour certaines, pour d'autres semble s'arrêter ou du moins n'est pas mesurable.

Quelques mamelons radicellaires sont parfois visibles et doignent à la racine un aspect tortueux : disposés sans ordre, ils ont l'allure de petites protubérances.

Les racines, dans leur ensemble, sont plus épaisses que les racines normales et leurs extrémités sont renflées en massues plus ou moins allongées et élargies (fig. 1, 3).

120 HEURES. — Au 5^e jour, la croissance continue très faiblement pour quelques racines. Le renflement subterminal tend à s'allonger ; les racines sont épaisses.

Les mamelons radicellaires massifs forment de petits monticules et la racine prend un aspect boursoufflé qu'augmente encore la tuméfaction colchicinique. Leur croissance est très lente.

144 HEURES. — Le 6^e jour, la croissance ne s'arrête pas, mais reste toujours de l'ordre du millimètre, tandis que les racines témoins sur Knop s'allongent de 1 cm. à 1,5 cm.

Les radicules sont toujours à l'état de mamelons massifs, bien plus courts que les ébauches radicellaires d'une racine témoin.

168 HEURES ET JOURS SUIVANTS (fig. 1, 4 et 5). — Enfin, pendant les 7^e et 8^e jours, quelques racines poursuivent leur croissance — toujours extrêmement faible — et s'arrêtent vers le 10^e ou 12^e jour, tandis que d'autres l'ont déjà terminée (1).

La racine est très épaisse, boursoufflée, et sa tuméfaction tend à s'élargir près de la coiffe, ce qui donne au microscope une coupe en arc de cercle de rayon très grand.

L'axe hypocotylé est également très épais.

Les racines portent soit des mamelons (7^e jour), soit, plus près de l'axe hypocotylé (12^e jour) (fig. 1, 5), des radicules courtes, massives et nettement renflées, dont la longueur ne dépasse pas 1 cm.

En résumé, la colchicine provoque la tuméfaction subterminale de la racine et inhibe progressivement sa croissance. Elle arrête également le développement des radicules et provoque toujours leur tuméfaction.

(1) A titre de comparaison, nous pouvons indiquer la croissance de deux racines de longueur initiale sensiblement égale, fixées le 8^e jour :

Sur Knop : allongement de 75 mm.

Sur colchicine : allongement de 9 mm.

LA STATHMOCINÈSE DANS LE MÉRISTÈME INITIAL

DUSTIN a créé le terme de *stathmocinèse* pour désigner la mitose influencée par la colchicine; cette influence consiste, en effet, dans un *arrêt* (σταθμος = arrêt) de la caryocinèse après l'achèvement de la prophase : les chromatides, isolées après clivage des chromosomes, ne peuvent être réparties en deux noyaux-fils et restent groupées. Nous étudierons en détail la stathmocinèse chez *Vicia Faba*.

24 heures. — STATISTIQUES. — Si nous regardons en coupe une racine cultivée pendant 24 heures sur colchicine, nous serons frappé par le grand nombre de figures de mitoses, principalement des stathmométaphases (1). Ce fait est confirmé par les statistiques qui fournissent les indications suivantes :

1° noyaux quiescents.....	73 %
2° prophases.....	5,1 %
3° stathmométaphases.....	18,2 %
4° stathmotélophases.....	4,1 %

Alors que la métaphase est un des stades les plus rapides de la mitose, le pourcentage élevé des stathmométaphases montre que ce stade est sensiblement allongé et, par voie de conséquence, indique une action inhibitrice, une action d'arrêt de la colchicine, confirmée, d'ailleurs, par les chiffres relativement élevés obtenus pour les stathmotélophases et les prophases. Nous reviendrons plus loin sur ces dernières.

LE NOYAU QUIÉSCENT. — *Dimensions*. — Les noyaux quiescents sont très nombreux. Les mensurations effectuées indiquent que leurs dimensions oscillent entre 8,4 μ et 11,7 μ , avec prédominance de noyaux à 10 μ . Il faut noter ici que les noyaux normaux varient entre 8 et 10 μ avec prédominance à 8,4 μ .

Structure. — Leur structure est identique à celle des noyaux d'un méristème normal de *Vicia Faba*, à la dimension près. Fixés au Helly et colorés au Feulgen, ils gardent leur teinte rouge-violet normale. Réguliers, ovoïdes ou ronds, ils possèdent toujours leur fin réseau de chromatine aux nœuds duquel on aperçoit les chromiocentres. La structure est donc en tous points semblable à celle d'un noyau normal (Pl. XVI, fig. 1, 2).

(1) La stathmométaphase est le stade de la stathmocinèse pendant lequel les chromosomes clivés sont groupés, en amas irréguliers, au centre de la cellule; la stathmotélophase est le stade de la stathmocinèse pendant lequel les 4 *n* chromatides subissent les transformations télophasiques (alvéolisation).

Le nucléole présente un contour régulier; il est de forme circulaire ou ovoïde.

La membrane nucléaire est parfois déchirée.

LA PROPHASE. — Dans son ensemble, la prophase colchicinique ne présente aucune modification par rapport à la prophase ordinaire.

Il semble cependant, vu le nombre assez élevé de prophases noté dans les statistiques, que la colchicine puisse ou bien allonger le temps de durée de cette phase; ou bien avoir une action stimulante sur elle. L'action générale de la colchicine étant, à la longue, d'inhiber l'activité mitotique et de prolonger la durée de certaines phases, il semble que la première hypothèse soit plus exacte.

LA STATHMOMÉTAPHASE. — *Disposition des paires chromosomiques.*

— A la stathmométaphase, les chromosomes assemblés par paire occupent la partie centrale de la cellule et constituent, non pas une plaque équatoriale, mais un amas chromosomique plus ou moins serré, le plus souvent allongé axialement, où chaque organite est distinct.

Ce sont ces stades, dès maintenant nombreux, qui durent le plus longtemps et que nous verrons prédominer les jours suivants d'une façon sensible. La colchicine agit nettement ici en prolongeant la durée de cette phase.

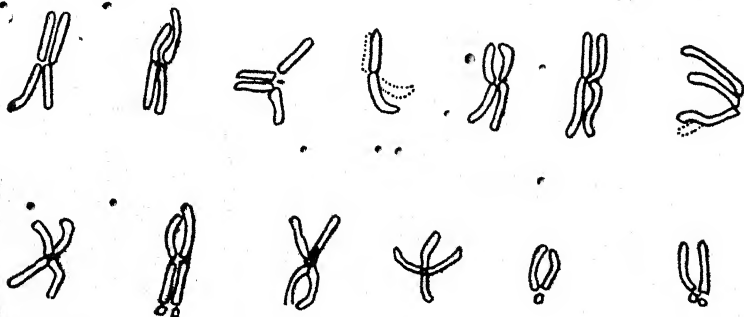


Fig. 2. — Aspect des paires de chromatides (C-paires) pendant la stathmométaphase colchicinique chez *Vicia Faba*.

Dans ces stathmométaphases, l'on peut observer des groupements particuliers des paires chromosomiques : groupements auxquels on a donné le nom de C-paires ou paires colchiciniques (LEVAN).

Les C-paires (fig. 2) sont constituées par l'assemblage de deux chromatides attachées par leur centromère. Les chromatides sont alors très sensiblement parallèles.

Comme l'a montré LAVAN, ce parallélisme ne dure pas : les C-paires offrent la disposition d'un X plus ou moins ouvert. Parfois seules les

moitiés d'une paire chromosomique s'écartent, les autres moitiés gardant leur position initiale. Dans d'autres cas, elles peuvent s'arquer en dessinant approximativement un cercle, ou s'enjamber ou s'incurver en faisant prendre contact aux moitiés chromosomiques de la paire. On remarque nettement les M chromosomes (SAKAMURA) et les satellites (M^{me} SVESHNIKOWA).

Enfin, les chromatides se séparent, mais sans s'éloigner grandement l'une de l'autre : la stathmométaphase est achevée.

Nombre des chromosomes. — Les divers pointages effectués sur un certain nombre de stathmométaphases nous permettent de dire qu'elles groupent 12 paires chromosomiques ou 24 chromatides plus ou moins disjointes.

Le fuseau. — La stathmocinèse colchicinique est caractérisée par l'absence du fuseau. Les paires chromosomiques semblent s'être dispersées dans la caryolymphe.

LA STATHMOTÉLOPHASE. — La stathmotélophase suit directement la stathmométaphase. Les chromosomes-fils vont s'alvéoliser sur place, dans la position qu'ils occupent (Pl. XVI, fig. 3).

Dans chaque chromosome apparaissent des trous, des lacunes orientées suivant l'axe ou disposées sans ordre. L'ensemble chromosomique semble corrodé superficiellement. Des anastomoses se forment, entre les chromosomes; mais ceux-ci conservent leur individualité : ils restent nettement distincts et se détachent en bandes alvéolées sombres sur des réseaux intercalaires plus clairs. Cette persistance de la forme du chromosome, déjà presque entièrement réticulé, est un fait curieux. Il arrive parfois que certains chromosomes ne sont pas encore alvéolisés, que d'autres le sont entièrement. On retrouve encore une fois l'action inhibitrice colchicinique.

Pendant ce temps, les nucléoles apparaissent. Puis les chromosomes reforment, d'abord par plages, qui se rejoignent ensuite, le « réseau des réseaux » et le noyau est reconstitué.

Le fait que l'alvéolisation se réalise sans qu'il y ait tassement des chromosomes conduit à la formation d'un noyau irrégulier dans ses contours, incurvé, multilobé, déchiqueté, émettant çà et là des prolongements.

Parfois la stathmotélophase a lieu au niveau d'un groupe chromosomique divisé en deux parties inégales; une séparation peut alors se produire entre les deux groupes : un petit noyau se forme à côté d'un grand. Des cellules trinuéclées peuvent se former par un processus analogue.

La division colchicinique prolonge les stades mitotiques, inhibe la formation du fuseau et le cloisonnement cellulaire et aboutit ainsi à doubler le nombre de chromosomes.

48 heures. — Une coupe dans une racine cultivée pendant 48 heures sur colchicine présente toujours un grand nombre de figures de mitose, essentiellement des stathmométaphases.

STATISTIQUES. — Les statistiques nous donnent les chiffres suivants :

1 ^o noyaux quiescents.....	67,0 %
2 ^o prophases.....	5,5 %
3 ^o stathmométaphases.....	23,4 %
4 ^o stathmotélophases.....	4,3 %

Elles nous montrent encore un pourcentage élevé — plus élevé même que la veille — de stathmométaphases : l'action inhibitrice de la colchicine se fait sentir essentiellement sur ce stade et le prolonge très longuement.

Les prophases et les stathmotélophases restent sensiblement au même niveau qu'après 24 heures de traitement.

Enfin, le pourcentage des noyaux quiescents est inférieur à celui du premier jour. Nous pouvons, semble-t-il, l'attribuer à deux causes :

1^o la colchicine n'empêche pas les noyaux d'entrer en prophase — du moins au début de son action — : d'où une diminution du nombre des noyaux au repos;

2^o la prolongation de la métaphase empêche la reconstitution rapide d'un assez grand nombre de noyaux.

LE NOYAU QUIESCENT. — La *structure* du noyau au repos n'a pas changé, l'aspect réticulé subsiste avec les chromocentres; mais leur contour n'est pas toujours aussi régulier, il est incisé, découpé. Nous avons indiqué, au chapitre précédent, quelle pouvait être une des causes de cette irrégularité du contour nucléaire (Pl. XVI, fig. 4 et 5).

Les *dimensions* de ces noyaux ont augmenté de 8,4 μ à 13,4 μ , un assez grand nombre mesurant 11,7 μ .

Nous pouvons déjà remarquer que les noyaux au repos présentent en général, une augmentation de leur volume. Étant donné les nombreuses stathmométaphases et le faible nombre de stathmotélophases — qui seraient susceptibles de fournir de gros noyaux — il semble que nous ne pouvons pas attribuer uniquement cet accroissement à la stathmocinèse : une action directe de la colchicine sur les dimensions du noyau quiescent paraît se manifester ici.

LA PROPHASE. — La prophase est normale. Elle se déroule suivant les processus indiqués d'autre part : résorption du réseau et apparition des filaments chromosomiques. Certaines figures prophasiques ont des dimensions plus grandes et proviennent probablement de noyaux tétraploïdes.

On aperçoit en général un seul nucléole, mais il est possible, quelquefois, d'en distinguer deux.

LA STATHMOMÉTAPHASE. — A partir de ce stade, et pour les stades suivants, nous abrégeons nos descriptions, les phénomènes se reproduisant d'une façon identique dans leur ensemble. Nous indiquerons, en passant, les modifications apportées par la stathmocinèse à l'équipement chromosomique.

La stathmométaphase présente toujours les mêmes caractères : chromosomes fissurés ou chromosomes-fils déjà séparés, absence du fuseau (Pl. XVI, fig. 6). On compte, en général, 12 paires; cependant quelques stathmométaphases à 24 paires sont visibles et proviennent sans doute de noyaux déjà reconstitués le premier jour.

LA STATHMOTÉLOPHASE. — Ces stathmotélophases se caractérisent toujours par la persistance des chromosomes, déjà réunis entre eux par des anastomoses et alvéolisés. Le nucléole est rarement seul. Pour les mêmes raisons que précédemment, ces processus aboutissent à reconstituer des noyaux multilobés et à doubler le nombre de chromosomes.

72 heures. — Au 3^e jour une section longitudinale nous montre l'extrémité de la racine plus épaisse que précédemment.

STATISTIQUES. — Le nombre de figures mitotiques est un peu moins élevé qu'au deuxième jour. Ces statistiques fournissent les données suivantes :

1 ^o noyaux quiescents.....	75 %
2 ^o prophases.....	6,1 %
3 ^o stathmométaphases.....	18,6 %
4 ^o stathmotélophases.....	4,9 %

Les stathmométaphases sont encore — conséquence de l'inhibition colchicinique — nombreuses et en même temps le nombre de prophases reste assez élevé (prolongation de ce stade). Il en est de même des stathmotélophases.

LE NOYAU QUIESCENT. — Si nous mesurons les noyaux au repos, nous constatons que ceux-ci, dans leur ensemble, continuent à augmenter de taille. Leurs dimensions varient entre 11,7 μ et 20,4 μ , la prédominance allant aux noyaux de 13,4 μ et 15 μ .

Leur réticulum à chromocentres est conservé; mais les mailles en sont parfois déchirées. Leur contour, incisé, déchiqueté, est bien moins régulier; les nucléoles se multiplient à mesure qu'augmente la taille des noyaux.

LA PROPHASE. — Elle est normale, mais se produit dans des noyaux plus gros.

LA STATHMOMÉTAPHASE. — A la stathmométaphase les chromatides sont réunies en paires, ou disjointes; elles ont gardé leurs dimensions habituelles et sont groupées en un amas, serré, globuleux ou allongé, occupant une grande partie de la cellule.

On compte, dans la plupart de ces stathmométaphases, 24 paires et, plus rarement, 48 paires.

Les noyaux à 24 chromosomes — tétraploïdes — ont donc donné lieu à des stathmométaphases à 24 paires.

LA STATHMOTÉLOPHASE. — Comme les jours précédents, elle est caractérisée par la persistance des formes des chromosomes.

96 heures. — En coupe, l'extrémité de la racine est très élargie et tend à prendre une forme arrondie. Les noyaux augmentent de taille et, dans le champ du microscope, le nombre de figures de mitose ou de noyaux quiescents diminue.

STATISTIQUES. — Elles donnent les indications suivantes :

1 ^o noyaux quiescents.....	80,2 %
2 ^o prophases.....	3,8 %
3 ^o stathmométaphases.....	13,3 %
4 ^o stathmotélophases.....	2,5 %

Nous pouvons déduire de ces chiffres — comparés avec les statistiques faites sur une racine témoin de même âge — que l'action de la colchicine se fait toujours nettement sentir sur la stathmométaphase qu'elle bloque pour un certain temps, mais aussi sur l'activité mitotique en général. En effet, le pourcentage des prophases va en diminuant et parallèlement le pourcentage des noyaux au repos augmente. La colchicine agit donc presque sur le déclenchement de la division et provoque une baisse de l'activité mitotique.

LE NOYAU QUIESCENT. — Les dimensions des noyaux s'accroissent encore. Les mensurations effectuées fournissent les indications suivantes : il y a peu de noyaux à 13,4 μ , par contre, les noyaux à 15 μ , 16,8 μ , 18,5 μ et 20 μ sont les plus nombreux. Quelques-uns atteignent 21,8 μ .

Leur structure reste inchangée, tant au point de vue du réticulum chromatique que des chromocentres. Seul le contour est plus déchiqueté, plus incisé (Pl. XVI, fig. 7). Les lobes sont plus ou moins profondément découpés et traversent parfois le noyau dans presque toute sa largeur. Les nucléoles sont plus ou moins nombreux et peuvent avoir des formes diverses ou même être lobés.

LA PROPHASE. — Les prophases se déroulent normalement (Pl. XVI, fig. 8).

LA STATHMOMÉTAPHASE. — Aux stathmométaphases, les chromosomes fissurés (C-paires), plus nombreux, occupent presque toute la cellule.

On compte, en général, 48 paires; quelques stathmométaphases, cependant, sont à 24 paires.

LA STATHMOTÉLOPHASE. — Elle est caractérisée par l'alvéolisation sur place des chromosomes et la persistance de la forme de ceux-ci. On peut même observer, dans les grands noyaux en reconstitution, que certains groupes chromosomiques sont entièrement confondus en un réseau, tandis que les autres chromosomes, alvéolisés et anastomosés, sont encore distincts. Les diverses phases de la caryocinèse se déroulent donc suivant les mêmes processus et aboutissent à doubler le nombre des chromosomes d'un noyau lui-même tétraploïde.

120 heures. — STATISTIQUES. — Au 5^e jour, les statistiques fournissent les chiffres suivants :

1 ^e noyaux quiescents.....	80 %
2 ^e prophases.....	3,3 %
3 ^e stathmométaphases.....	14,4 %
4 ^e stathmotélophases.....	3 %

LE NOYAU QUIESCENT. — Les noyaux quiescents atteignent, malgré la baisse de l'activité caryocinétique, des diamètres de 16,8 μ à 25 μ . Ils conservent leur réticulum avec de nombreux chromocentres. Ils deviennent toujours plus lobés, plus découpés. Les nucléoles sont en quantité variable, mais nombreux.

LA STATHMOCINÈSE. — Par ailleurs, il n'y a pas de changements notables. Les *prophases*, moins nombreuses, ne présentent aucune modification.

Les *stathmométaphases* offrent, pour la plupart, 96 paires.

Les *stathmotélophases* n'indiquent aucune différence, sauf dans le nombre de chromosomes s'alvéolisant qui, évidemment, augmente. La reconstitution nucléaire donne un noyau ayant redoublé une fois encore son équipement chromosomique.

144 heures. — STATISTIQUES. — Au 6^e jour, la racine, très tuméfiée, permet d'établir les statistiques suivantes :

1 ^e noyaux quiescents.....	84 %
2 ^e prophases.....	3,9 %
3 ^e stathmométaphases.....	10,8 %
4 ^e stathmotélophases.....	1,1 %

Elles indiquent une augmentation des noyaux au repos et une diminution des stathmométaphases et des stathmotélophases, les premières restant malgré tout les plus nombreuses.

LE NOYAU QUIESCENT. — La structure réticulée des noyaux au repos n'est pas altérée (Pl. XVI, fig. 10); mais leur contour est lobé,

déchiqueté. On observe de gros et nombreux chromocentres. Le noyau a tendance à se fragmenter. Les nucléoles se multiplient.

Les mensurations montrent que les noyaux au repos deviennent très gros : les dimensions varient entre $18,5 \mu$ et $28,6 \mu$, en augmentation régulière sur le jour précédent.

LA STATHMOCINÈSE. — Elle ne présente pas de modifications (Pl. XVI, fig. 11), sauf pour la stathmométaphase, qui offre un nombre extrêmement élevé de chromosomes clivés, de l'ordre de 192, et pour la stathmotélophase (Pl. XVI, fig. 12; on n'a représenté qu'une partie de l'image télophasique) pendant laquelle s'alvéolisent ces très nombreux chromosomes.

A ce stade, le volume occupé par une stathmométaphase fait que l'on retrouve celle-ci dans plusieurs coupes successives de la même racine : d'où la possibilité d'obtenir une évaluation approximative dans ces vases groupements chromosomiques.

168 heures et jours suivants. — **STATISTIQUES.** — Les statistiques indiquent un nombre de noyaux au repos encore plus élevé pour les 7^e et 8^e jours : 84 % et 91 %.

Les prophases sont nettement en voie de disparition : 2,7 % et 0,9 %. Il en est de même des stathmométaphases qui restent les plus nombreuses : 11,7 % et 6,4 %, et des stathmotélophases : 1,1 % et 0,8 %.

De l'ensemble, on peut conclure à une baisse de l'activité mitotique et à la disparition très proche des phénomènes de division.

LE NOYAU QUIESCENT. — La structure du noyau au repos reste inchangée (Pl. XVII, fig. 16). Il est devenu volumineux, très découpé, multilobé et tend à se fragmenter. Mais on distingue nettement son réseau et ses chromocentres. Les nucléoles sont nombreux et de forme quelconque.

Les dimensions sont, pour ces deux jours (7^e et 8^e), les mêmes et sensiblement en augmentation par rapport au 6^e jour : elles s'étagent entre 25μ et $33,6 \mu$.

LA STATHMOCINÈSE. — Les phases de la division colchicinique sont normales (Pl. XVII, fig. 17 et 18).

Les paires chromosomiques atteignent pour la très grande majorité 192. Cependant, nous avons pu compter, dans certaines figures stathmométaphasiques, des nombres deux fois plus élevés, résultant vraisemblablement d'une ultime division.

A partir de ce moment, en effet, l'activité mitotique s'arrête.

Amitoses et pseudo-amitoses. — Dans les méristèmes colchicinés, on observe des cas d'amitoses. Le noyau commence par montrer une légère entaille, qui s'approfondit peu à peu pour gagner l'autre bord

ou pour rejoindre une incisure correspondante sur le côté opposé. Les déchirures se font plus profondes, et les deux fragments ne sont retenus que par un tractus de largeur variable qui finit par se déchirer et libérer deux noyaux de taille égale ou inégale. Le nucléole, lorsqu'il est seul, accompagne l'un des fragments; mais il arrive, lorsqu'il y en a plusieurs, que chaque nouveau noyau soit pourvu d'un ou de plusieurs de ces organites.

A côté des amitoses, on aperçoit des cas de fragmentation nucléaire. Tout d'abord dans des noyaux quiescents, très découpés, très déchiquetés. Dans ces noyaux, l'isthme qui retient le lobe à l'ensemble nucléaire se réduit progressivement et finit par ne plus être qu'un fin tractus. Celui-ci se rompt et libère un fragment nucléaire de taille quelconque.

Ou bien cette fragmentation se réalise même pendant la stathmotélophase. La position quelconque des chromosomes fait que ceux-ci sont parfois réunis par groupes reliés par des tractus chromosomiques. Il arrive que ces liens se scindent, libérant soit des chromosomes en voie d'alvéolisation, soit des fragments nucléaires presque reconstitués et pourvus d'une membrane.

Les amitoses sont nombreuses dans les premiers jours, et beaucoup plus rares dans les derniers. C'est le contraire qui se produit pour les phénomènes de fragmentation nucléaire : le noyau augmentant de volume, multilobé, est moins stable.

Résumé. — Nous grouperons dans un tableau les faits essentiels de l'action de la colchicine.

Nous pourrions en conclure :

1° Que l'activité mitotique diminue sous son influence. La disparition des prophases montre bien dans quel sens agit la colchicine : elle inhibe progressivement le déclenchement du mécanisme de la division, ne l'arrête pas instantanément.

2° La métaphase est un des stades les plus brefs de la mitose ordinaire. Au contraire, dans la stathmocinèse, ce sont ces figures que l'on rencontre le plus souvent. Les pourcentages obtenus sont si élevés — comparés à ceux des racines témoin — qu'il n'existe aucun doute sur le blocage produit par la colchicine et qui atteint son maximum à cette phase, la prolongeant très longuement.

La durée des autres stades est également allongée. La stathmotélophase est, en outre, caractérisée — ce qui n'est qu'un cas particulier de son action d'arrêt — par la persistance de la forme du chromosome déjà alvéolisé.

3° La stathmocinèse, inhibant la formation du fuseau, supprimant l'anaphase, aboutit à doubler plusieurs fois l'équipement chromosomique normal de *Vicia Faba*. On obtient des noyaux hyperpolyploïdes.

Effets de la Colchicine sur *Vicia Faba*.

Jours	1 ^{er}	2 ^e	3 ^e	4 ^e	5 ^e	6 ^e	7 ^e	8 ^e
Dimensions	8,4 μ 10 μ 11,7 μ	34 8,4 μ 10 μ 11,7 μ 13,4 μ	21 11,7 μ 13,4 μ 15 μ 16,8 μ 18,5 μ 20 μ	13,4 μ 15 μ 16,8 μ 18,5 μ 20 μ 21,8 μ	21 16,8 μ 18,5 μ 20 μ 21,8 μ 23,5 μ 25 μ	10 18,5 μ 20 μ 21,8 μ 23,5 μ 25 μ 26,9 μ 28,6 μ	23 25 μ 26,9 μ 28,6 μ 30 μ 31,9 μ 33,6 μ 33,6 μ	18 25 μ 26,9 μ 28,6 μ 30 μ 31,9 μ 33,6 μ 33,6 μ
Noyaux quiescents	73 %	67,5 %	75 %	80,2 %	80 %	84 %	84 %	91 %
Prophases	5,1 %	5,5 %	6,1 %	3,8 %	2,3 %	3,9 %	2,7 %	0,9 %
Stathmo-métaphases	18,2 %	23,4 %	18,6 %	13,3 %	14,4 %	10,8 %	11,7 %	6,1 %
Stathmo-télophases	4,1 %	4,3 %	4,9 %	2,5 %	3 %	1,1 %	1,1 %	0,8 %
Nombre de chromosomes	12 C. paires	12 C. paires et quelques stathmo-métaphases de	24 C. paires quelques stathmo-métaphases à 48 C. paires	48 C. paires mais encore quelques stathmo-métaphases à 24 C. paires	96 C. paires	192 C. paires	192 C. paires quelques stathmo-métaphases à 2 \times 192 C. paires	du même ordre
2n = 12								

4^o Malgré cette diminution de l'activité mitotique — et le pourcentage des noyaux au repos allant en croissant — le volume des noyaux quiescents augmente d'une façon régulière, progressive, jusqu'au 7^e jour où elle se stabilise.

Par conséquent, la colchicine arrête la prolifération des cellules; mais elle ne supprime pas leur allongement : d'où l'allongement et la tuméfaction de la racine.

LA STATHMOCINÈSE DANS LES ÉBAUCHES RADICELLAIRES

Les ébauches radicellaires ont été étudiées en coupes longitudinales sur des portions de racine situées à environ 1 centimètre au-dessus de la coiffe.

Pour saisir dès le début, l'action de la colchicine sur les ébauches, nous avons fixé des racines, toutes les 24 heures, du premier jusqu'au dixième jour.

24 heures. — Après 24 heures de traitement, on note la présence, de place en place, dans la région péricyclique, de noyaux un peu plus grands (11 μ) que les noyaux ordinaires (9 à 10 μ).

Les figures mitotiques sont rares : des prophases et quelques rares stathmométaphases : les douze chromosomes clivés sont dispersés dans la cellule.

On n'observe pas d'ébauche radicellaire.

48 heures. — Le deuxième jour, la racine colchicinée montre quelques ébauches composées d'un petit nombre de cellules dont les noyaux mesurent de 13 à 16 μ ; certains d'entre eux sont en voie de stathmocinèse.

72 heures. — Le jour suivant, dans les ébauches radicellaires, formées de quatre à cinq assises de cellules, les divisions sont nombreuses.

Le noyau quiescent, dont la structure n'a pas changé, est incisé, déchiqueté, divisé en plusieurs lobes; il contient plusieurs nucléoles. Ses dimensions sont de l'ordre de 20 à 30 μ .

Diverses cellules présentent des figures de stathmométaphase (dans lesquelles on peut compter, suivant les cas, 12, 48 et même 96 chromosomes clivés) et de stathmotélophase.

96 heures. — Les ébauches radicellaires sont nettement indiquées : elles comprennent une dizaine d'assises, avec de gros noyaux, quiescents et en division.

Les noyaux au repos conservent toujours leur structure normale. Leur profil est très découpé. Les nucléoles se multiplient et les chromocentres sont nombreux. Leurs dimensions varient entre 25 et 35 μ .

Les figures prophasiques sont normales, mais volumineuses (Pl. XVI, fig. 9).

Les stathmométaphases présentent 96 chromosomes clivés.

Les stathmotélophases sont moins nombreuses.

120 heures. — L'ébauche radicellaire, très marquée, est pourvue de noyaux volumineux.

Les noyaux quiescents atteignent de 25 à 42 μ de diamètre. Leur structure est inchangée. Cependant le noyau, multilobé, paraît gonflé et parfois le réseau se déchire en plusieurs endroits.

Les prophases sont de grande taille et contiennent de nombreux nucléoles.

Dans les figures de stathmométaphase, les chromosomes sont groupés en un amas dans lequel on parvient à dénombrer 192 éléments clivés.

On observe encore quelques stathmotélophases.

144 heures. — Les noyaux quiescents atteignent de 28 à 50 μ (Pl. XVI, fig. 13).

Les figures stathmocinétiques sont très rares et identiques à celles déjà rencontrées.

168 heures. — Les noyaux au repos sont volumineux : 45 à 75 μ . On compte jusqu'à 14 ou 15 nucléoles par noyau.

Les figures mitotiques, de plus en plus grandes, sont rares et quelques-unes subissent une dégénérescence pycnotique.

192 heures. — Les noyaux, volumineux, atteignent de 51 à 83 μ . Ils sont pour la plupart profondément incisés et leur contour est très irrégulier (Pl. XVII, fig. 19). Les figures de mitose, très rares, comportent quelques prophases de grande taille, avec de nombreux nucléoles, et quelques stathmométaphases, avec un nombre de chromosomes excessivement élevé.

216 heures et 240 heures. — Les noyaux quiescents ont des dimensions de même ordre que les jours précédents.

On observe encore quelques figures prophasiques géantes et des figures de stathmométaphase avec chromosomes innombrables.

Mais l'activité mitotique se ralentit progressivement.

Résumé. — L'action de la colchicine se fait sentir de la même manière sur le mécanisme de la mitose que dans les méristèmes initiaux. Elle double plusieurs fois l'équipement chromosomique du noyau, agit sur le noyau sans modifier sa structure réticulée, bloque progressivement la mitose et prolonge les divers stades de la division.

Cependant les réactions des ébauches radicellaires montrent qu'elles sont plus sensibles que les méristèmes initiaux à l'action de l'alcaloïde. Très tôt, on aperçoit de gros noyaux. Alors que, dans le méristème, ils atteignent, au bout de 4 jours de traitement, par exemple, un maximum de 21μ , dans les ébauches, ce sont des dimensions de 35μ . Enfin, les noyaux de 60 et 80μ se rencontrent uniquement dans ces ébauches.

Enfin l'activité mitotique persiste plus longtemps dans les ébauches radicellaires que dans les méristèmes apicaux.

Les noyaux des ébauches radicellaires réagissent donc davantage que ceux des méristèmes initiaux.

EFFETS DE LA COLCHICINE SUR LE CHONDRIOME ET LA DIFFÉRENCIATION DES CELLULES

Le chondriome reste intact. — Le chondriome normal de la racine de *Vicia Faba* se présente à la fois sous forme de grains et de bâtonnets plus ou moins longs et flexueux; non loin du sommet de l'organe apparaissent, en outre, quelques leucoplastes (fig. 3, 43).

Sur ce chondriome la colchicine ne semble avoir aucune action. Les coupes observées tant les premiers jours que le huitième montrent, en effet, très nettement l'existence de ces organites. On les retrouve, avec leurs formes habituelles : grains, filaments, leucoplastes, sans trace d'altération (fig. 3, 44, 45, 46).

La différenciation est accélérée. — La colchicine agit également sur la différenciation cellulaire en l'accélérant. En effet, le méristème est transformé en une tumeur formée de cellules différenciées hypertrophiées.

Le premier jour, le méristème ne présente aucun changement. Mais les cellules augmentent de taille. Vers le troisième jour, les cellules, déjà hypertrophiées, tendent à prendre une forme circulaire, ovoïde ou polygonale. Les cellules de la coiffe s'exfolient sans que, la prolifération étant bloquée, d'autres viennent les remplacer. Les cellules méristématiques voisines, dans lesquelles les vacuoles se trouvent en voie de développement, sont ainsi dénudées.

Le méristème se transforme ainsi, peu à peu, en une tumeur parenchymateuse, dans laquelle les vaisseaux se prolongent, par quelques éléments de transfusion, comme à l'intérieur d'un organe définitivement différencié.

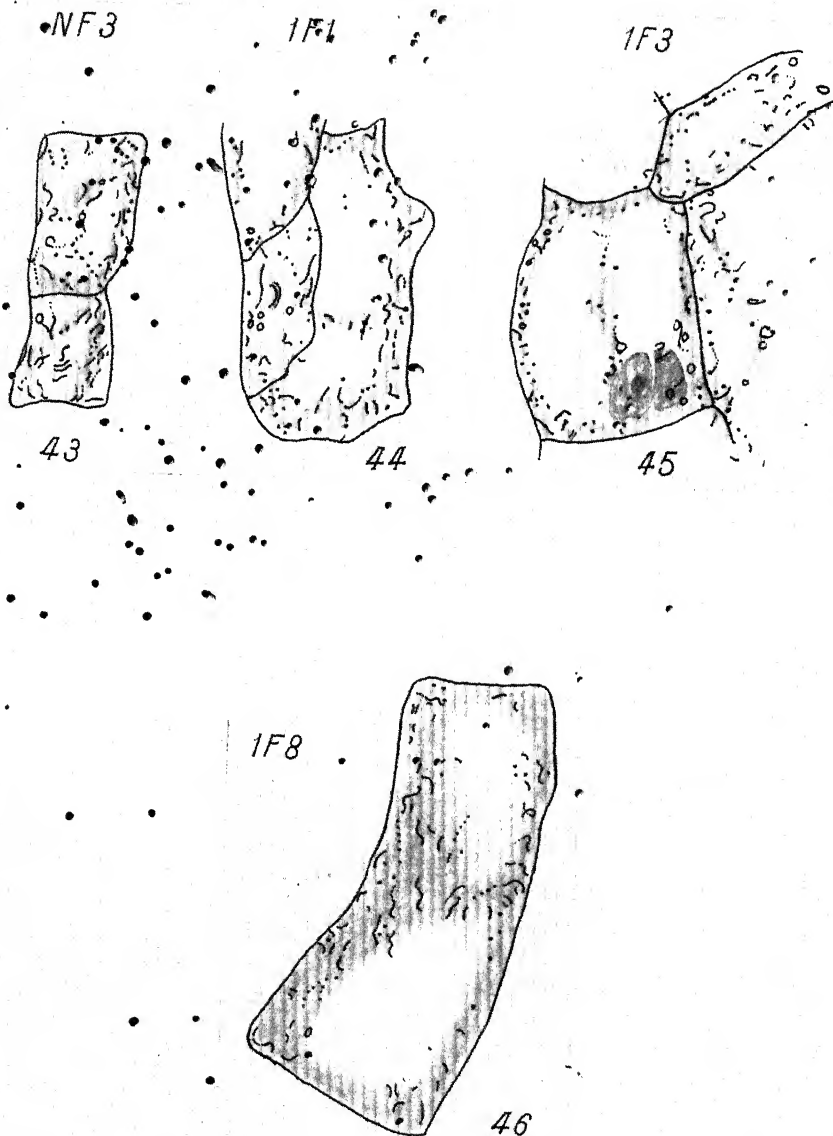


FIG. 3. — Chondriome dans les racines normales (43) et dans les racines colchicinées (44, 45, 46) de *Vicia Faba*.

LES EFFETS DU CHLORAL
EFFETS PRODUITS PAR UNE ACTION PROLONGÉE

Dans une expérience en tous points semblable à celle réalisée avec la colchicine nous avons laissé séjourner des racines — toujours rattachées à la plantule — dans un milieu chloralisé pendant une dizaine de jours. La solution d'hydrate de chloral, dans du liquide de Knop à 50 %, était à la concentration de 0,5 %.

Morphologie de l'appareil racinaire chloralisé.

Les racines plongées dans ce milieu ont présenté, après un séjour de 24 heures, un allongement de 1 mm. à 1,5 mm. Comparées aux racines cultivées sur milieu colchiciné, nous constatons que leur croissance est encore plus faible.

Au deuxième jour les racines se sont très peu allongées ou même ont arrêté leur croissance. Elles sont courtes et grêles. Leur teinte devient grisâtre. Elles trouvent, semble-t-il, une très grande difficulté à vivre dans le milieu chloralisé. Aucune ne présente le renflement subterminal si caractéristique de l'action colchicinique ou même un épaississement quelconque analogue à ceux aperçus chez *Pisum sativum* par NEMEČ.

Les jours suivants, la croissance est extrêmement réduite et il devient difficile d'apprécier l'élongation de chaque racine. La teinte grisâtre persiste et s'accroît.

Enfin, au 5^e jour, l'allongement est terminé. A ce moment, l'extrémité des racines, dont la teinte devient de plus en plus sombre, tend à prendre la forme d'un crochet.

Laissées dans le milieu chloralisé jusqu'au 10^e jour, elles ne se sont jamais épaissies ou tuméfiées, ni accrues (fig. 4).

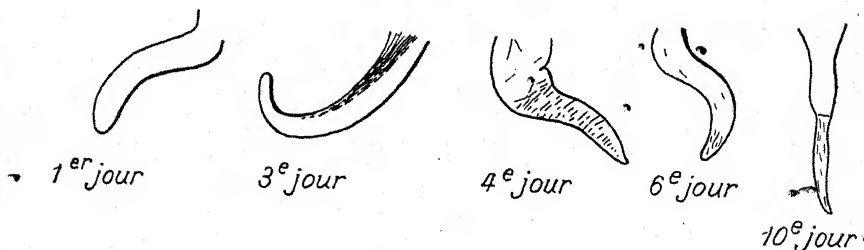


FIG. 4. — Silhouettes des racines de *Vicia Faba* après 1, 3, 4, 6 et 10 jours de traitement par du liquide de Knop à 1/2 chloralisé à 0,5 %.

Elles se distinguent donc nettement des racines colchicinaées par leur aspect, leur croissance, leur couleur et aussi par l'appareil radicellaire. Si ces dernières poussent assez tard chez les racines colchicinaées, nous n'avons pu distinguer de mamelons radicellaires dans ces cultures pendant leur séjour sur le chloral.

Pour fixer les idées, nous indiquons l'allongement que subissent trois racines plongées, pendant quatre jours, dans les trois milieux :

1° Liquide de Knop.....	25 mm
2° Knop colchiciné.....	6 mm
3° Knop chloralisé.....	2 mm maximum

24 heures. — Les figures de mitose sont rares et, corrélativement, les noyaux quiescents très nombreux.

LE NOYAU QUIESCENT. — La racine chloralisée, au premier jour, montre un très grand nombre de noyaux au repos (Pl. XVII, fig. 20 et 21). La structure réticulée subsiste dans la plupart d'entre eux, mais présente, chez d'autres, des signes d'altération. La réaction de Feulgen permet de colorer normalement leur réseau en rouge violet; certains d'entre eux sont pycnotiques : la réaction de Feulgen les révèle comme des globules homogènes, denses, d'un rouge brillant.

LA PROPHASE. — Les prophases paraissent peu nombreuses. La plupart sont à un stade avancé. Les chromosomes se présentent clivés ou bien les anses chromatiques épaisses sont plus ou moins altérées et semblent comme corrodées sur leur bord, pénétrées par des indentations. Le nucléole persiste.

Le faible nombre de prophases, leur aspect, la présence à peu près exclusive de stades avancés indique le mode d'action brutal du chloral.

LA STATHMOMÉTAPHASE. — Cet arrêt de la mitose et des diverses phases — ainsi que nous allons le voir — permet d'appliquer le préfixe « stathmo » aux divers aspects de la métaphase — et de la télophase — modifiée par le chloral.

Elle se présente sous les deux aspects suivants :

1° Les chromatides peuvent être assemblées par paires, occupant le centre de l'aire cellulaire. Assez souvent, les deux chromatides sont très serrées l'une contre l'autre, quoique visibles. Il est difficile d'apercevoir le centromère. On n'observe jamais de figures en croix.

2° La stathmométaphase est un amas de chromosomes disjoints, fins, parfois à bords légèrement déchiquetés, disposés sans ordre, mais serrés les uns contre les autres. Leur nombre ne dépasse pas 24 (12 chromosomes clivés).

L'agencement particulier de ces chromosomes peut faire supposer qu'ils proviennent d'une plaque équatoriale terminée, allant commencer l'anaphase, mais arrêtée et modifiée par l'action du chloral.

Le fuseau est détruit sur place et disparaît. Les images du premier groupe (chromatides étroitement rapprochées) correspondent à une métaphase abortive, les images du second groupe (chromatides séparées) à une anaphase.

LA STATHMOTÉLOPHASE. — Les stathmotélophases sont rares. Ce sont des amas d'où se détachent des extrémités de chromosomes à bords irréguliers. Dans certaines figures les chromosomes sont alvéolisés, distincts, mais présentent peu d'anastomoses entre eux.

72 heures. — LE NOYAU QUIESCENT. — Trois jours après le début du traitement, les noyaux offrent un contour circulaire, ovalaire, plus ou moins triangulaire. Leur structure est altérée : le réseau semble se contracter et devient moins visible.

Ces noyaux quiescents sont très nombreux et leurs dimensions, loin d'atteindre celles des noyaux colchicinés, sont, en général, inférieures à celles des noyaux normaux.

Nombreux cas de pycnose (noyaux uniformément colorés en rouge intense par le réactif de Feulgen).

LA MITOSE. — Les diverses images mitotiques sont caractérisées par l'aspect contracté, affaissé, des chromosomes; après la disparition de la membrane nucléaire, les chromosomes, dont le clivage est mal distinct, restent groupés en amas, sans fuseau; à ces chromosomes manifestement altérés, le réactif de Feulgen confère la teinte violacée-rouge caractéristique de la chromatine pycnotique.

96 heures. — LE NOYAU QUIESCENT. — Presque tous les noyaux sont quiescents; ils offrent des formes en croissant, triangulaires, biconcaves, quelques-uns sont déchirés. Le réactif de Feulgen les teint en violet sombre.

Leur réticulum est plus ou moins bien conservé. Il peut se présenter sous forme de grosses travées et de gros chromocentres, limitant des espaces clairs (Pl. XVII, fig. 22); plus généralement il est contracté (Pl. XVII, fig. 23). La contraction du réseau s'accompagne de celle du noyau. Les mensurations effectuées nous indiquent en effet que la plupart des noyaux au repos ont de $6,7 \mu$ à $8,4 \mu$, au lieu de $8,4 \mu$ et 10μ pour une fève normale de même âge.

LA MITOSE. — Les phases de la mitose sont rares. La figure 24 (Pl. XVII) donne une idée de l'aspect des prophases : on y remarque l'état affaissé des chromosomes, dont le clivage est mal visible. Les stathmométaphases se distinguent surtout par l'absence de membrane nucléaire et de nucléole; mais elles ne présentent pas de fuseau. Il semble que ces amas chromosomiques ne puissent pas reconstituer de noyaux quiescents : on n'observe pas de stathmotélophases.

144 heures. — LE NOYAU QUIESCENT. — Après un traitement de 6 jours par le chloral, la racine présente des noyaux quiescents aux

contours variés et au réseau plus ou moins contracté (Pl. XVII, fig. 25 et 26).

Ces noyaux quiescents sont en très grand nombre. Dans la zone voisine de la coiffe ils mesurent environ 5 μ . Beaucoup d'entre eux sont pycnotiques.

LA MITOSE. — Les phases de la mitose, peu nombreuses, sont mal définies. Les *prophases* sont douteuses; les quelques rares figurés que l'on pourrait attribuer à ce stade sont peu nettes et susceptibles d'être confondues avec des noyaux au repos dont la structure serait bouleversée. Aux *stathmométaphases* correspondent des amas de chromosomes altérés (Pl. XVII, fig. 27).

192 heures. — Les caractères décrits précédemment se retrouvent le 8^e jour. À ce stade les noyaux au repos, aussi bien que les rares, diverses figures de division sont, dans leur ensemble, pycnotiques.

LE NOYAU QUIESCENT. — Les dimensions des noyaux varient entre 6,7 μ et 8,4 μ et leur réticulum est parfois très abîmé. La structure est contractée (Pl. XVII, fig. 28).

LA MITOSE. — Les *prophases*, en très petit nombre, sont représentées, comme précédemment, par un amas globuleux ou ovoïde de chromosomes contractés (Pl. XVII, fig. 29), souvent d'aspect pycnotique (coloration par la méthode de Feulgen).

Les *stathmométaphases* ressemblent à celles des jours précédents et l'on n'observe pas de *stathmotélophase*.

Amitoses et pseudo-amitoses. — Des amitoses ont lieu dans le méristème chloralisé, suivant les processus habituels. Le noyau se scinde en deux fractions par des fentes qui s'approfondissent et se rejoignent. Elles sont, d'ailleurs, bien moins nombreuses que dans la fève colchicinée.

Résumé. — Dès le premier jour, le chloral agit brusquement sur le noyau et la mitose.

La structure du noyau quiescent est altérée. Il se contracte et ses dimensions diminuent.

Les stades de la mitose deviennent, en raison de l'affaissement des chromosomes, de plus en plus confus. On peut même éprouver de l'embarras lorsqu'il s'agit de définir telle ou telle image comme une prophase ou comme une stathmométaphase; le fuseau est entièrement inhibé.

La chromatine du réseau et des chromosomes présente, d'ailleurs, une altération évidente, comme en témoigne la teinte rouge violacée que lui confère le réactif de Feulgen; il s'agit d'une tendance manifeste à la pycnose. Ces noyaux abîmés, contractés, offrent un grand contraste avec les noyaux géants, mais sains, des cellules colchicinées.

Effets du chloral sur le chondriome.

Pour étudier les altérations du chondriome dans les racines chloralisées nous avons traité celles-ci dans des solutions d'hydrate de chloral dans le liquide de Knop dilué de moitié, à deux concentrations. La première, à 0,5 %; la deuxième à 0,25 %.

Les résultats sont sensiblement les mêmes.

Au début, l'action du chloral ne se manifeste pas et l'on distingue nettement, dans les cellules méristématiques, des grains et des bâtonnets de longueur variable, flexueux, ainsi que des leucoplastes, absolument semblables aux chondriocotes, mitochondries et plastes normaux (fig. 5).

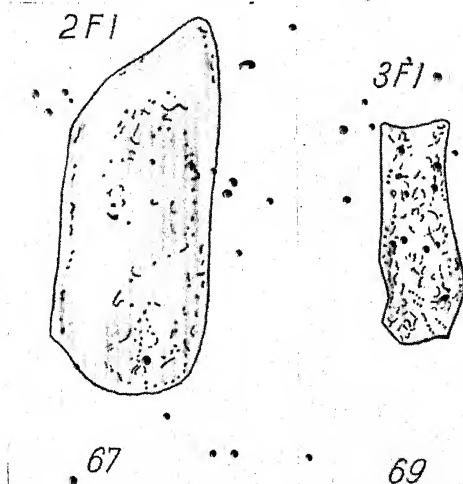


FIG. 5. — Deux cellules d'une racine (69 : cellule du plérome; 67 : cellule corticale jeune) de *Vicia Faba*, 24 heures après le début du traitement par le chloral.

Dans les jours suivants (troisième jour, par exemple), le chondriome subsiste encore dans certaines cellules. Le protoplasme altéré, rejeté vers les parois, ne contient cependant plus qu'un chondriome raréfié (fig. 6).

Enfin, au huitième jour, le protoplasme ne contient plus ni chondriosomes, ni plastes (fig. 7).

EFFETS PRODUITS PAR DES TRAITEMENTS BRÈFS

Dans une nouvelle série d'essais nous avons repris les expériences faites par les divers auteurs, en modifiant légèrement les concentrations et les temps.

Les solutions d'hydrate de chloral sont employées aux concentrations suivantes: 0,5 % et 1 %, et les durées du séjour dans ces liquides limitées à 6 heures, 12 heures, 24 heures. Ensuite, les racines prélevées sont remises sur liquide de Knop dilué à 50 %.

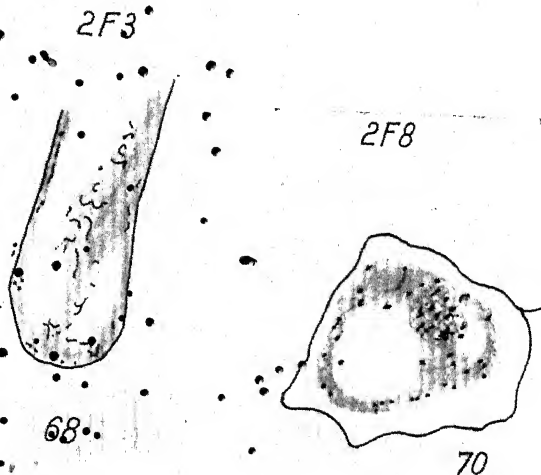


FIG. 6. — Deux cellules d'une racine (région méristématique) de *Vicia Faba*, 72 heures après le début du traitement par le chloral. Le chondriome ne comprend qu'un petit nombre d'éléments, plus ou moins altérés.

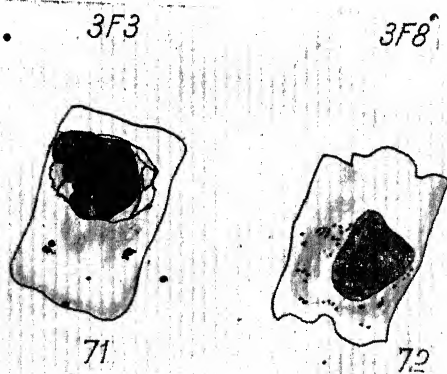


FIG. 7. — Deux cellules d'une racine de *Vicia Faba*, huit jours après le début du traitement par le chloral; autour du noyau (corpuscule de forme indéfinie, intensément coloré par l'hématoxyline), le cytoplasme ne contient plus de chondriosomes (71) ou ne contient qu'un petit nombre de grains (chondriome altéré, sans éléments filamenteux).

Elles sont fixées, à intervalles déterminés, identiques pour toutes, soit au Helly, soit au Navachine. Dans le premier cas, elles sont colorées au réactif de Schiff après hydrolyse (Feulgen), dans le deuxième cas à l'hématoxyline ferrique.

TRAITEMENTS DE 6 HEURES

Morphologie de l'appareil radiculaire.

Pendant le séjour de 6 heures dans le milieu chloralisé, nous n'avons pu noter d'élongation des racines. Mais, elles prennent déjà une teinte grisâtre assez claire; ceci pour les deux concentrations utilisées.

Durant les 24 heures qui suivent le retour sur le milieu nutritif normal, les racines poussent lentement et difficilement. Après 48 heures, le retour vers une croissance normale est plus marqué. A 72 heures (3 jours), on note un allongement de 3 à 4 mm. Enfin au bout de 5 jours, la poussée est régulière et de l'ordre du centimètre. Tout cela dans les deux milieux employés.

Les radicelles apparaissent après 72 heures chez les racines plongées, dans la solution la moins concentrée; pour les autres, il faut attendre 120 heures (5 jours).

A 192 heures (8 jours) toutes les racines ont repris leur aspect normal et de nombreuses radicelles ont poussé.

A ce moment les racines présentent deux zones distinctes par leur couleur : une zone grise — plus foncée pour les racines cultivées sur la solution à 1 % — indiquant le passage de la racine dans le milieu chloralisé, une zone blanchâtre apicale, correspondant aux éléments formés après retour sur liquide de Knop.

En aucun cas, les racines ne forment de tuméfaction dans la zone subterminale.

La mitose et le noyau quiescent dans les racines cultivées sur chloral à 5 %.

1 heure. — LE NOYAU QUIESCENT. — Les racines fixées après une heure de séjour dans le liquide de Knop nous montrent un grand nombre de noyaux au repos. La structure réticulée avec ses chromocentres est conservée ou peu altérée. Les dimensions sont normales et les contours réguliers.

LA PROPHASE (fig. 8). — Les figures mitotiques sont peu nombreuses. Les prophases présentent des anses chromatiques épaisses, dont la fissuration est peu visible ou invisible, parfois agglomérées.

LA STATHMOMÉTAPHASE (fig. 9, 76, 78). — La stathmométaphase est caractérisée par l'absence du fuseau : les chromosomes sont restés sur place, bloqués par l'action du chloral.



76



78



77

FIG. 8. — Prophase dans le méristème d'une racine de *Vicia Faba* traitée, pendant six heures, par une solution de chloral à 0,5 %, puis placée, pendant 24 heures, sur liquide de Knop à 1/2.

LA STATHMOTÉLOPHASE. — Les stathmotélophases (fig. 9, 74, 75) sont peu nombreuses; la figure 9 (75) représente une stathmotélophase typique; la figure 9, (74) reproduit, au contraire, une image avec deux groupes polaires réunis par des ponts chromosomiques, résultant sans doute de l'action du chloral sur une figure anaphasique préexistante.



76



78



74



75

FIG. 9. — Stathmométaphase (76, 78) et stathmotélophase (74, 75) dans une racine de *Vicia Faba* traitée, pendant six heures, par une solution de chloral à 0,5 %, puis placée, pendant 24 heures, sur liquide de Knop à 1/2.

6. heures. — LE NOYAU QUIESCENT. — Les noyaux quiescents gardent une structure normale; quelques-uns présentent un contour lobé, festonné (Pl. XVII, fig. 30); certains ont l'aspect d'une haltère, comme le signale NEMEC.

LA PROPHASE. — Après 6 heures de séjour sur Knop les figures de mitose sont plus nombreuses.

Les filaments prophasiques observés sont intacts (Pl. XVII, fig. 31).

LA STATHMOMÉTAPHASE. — Dans la plupart des cas, les chromatides sont groupées par paires, dispersées ou réunies en un groupe plus ou moins compact; on n'observe pas de figures en croix, comme parmi les C. paires colchicinales (Pl. XVII, fig. 32).

LA STATHMOTÉLOPHASE. — Ces figures sont rares et peuvent se confondre avec des stathmométaphases dont les chromosomes seraient en voie d'altération.

24 heures. — LE NOYAU QUIESCENT. — Le noyau ne présente aucun changement, tant dans sa structure que dans sa forme. A côté de ces noyaux de $8,4 \mu$, on mesure quelques noyaux de 15μ de grand axe sur 7μ . Ce sont des noyaux tétraploïdes, provenant des stathmotélophases précédemment décrites, à 12 paires chromatides.

On note la présence de cellules binucléées et de cellules incluses à l'intérieur d'une grande cellule.

LA PROPHASE. — Au bout de 24 heures les figures de mitose sont nombreuses. On observe beaucoup de prophases, tout à fait semblables aux prophases normales.

LA STATHMOMÉTAPHASE. — Les stathmométaphases, avec chromatides réunies par paires autour du centromère, ne présentent jamais de croix ou d'X.

LA STATHMOTÉLOPHASE. — Ces figures sont assez nombreuses. Succédant directement aux figures de stathmométaphase à 12 paires, elles aboutiront à des noyaux tétraploïdes.

D'autre part, la disposition quelconque du groupe chromosomique, à la stathmométaphase fait que le noyau prend, lorsqu'il se reconstitue, le même contour général : des parties réunies à l'ensemble par un court pédicelle peuvent se détacher; d'où la formation de cellules binucléées.

48 heures. — Enfin, après 48 heures, les noyaux quiescents restent inchangés, mais parmi eux certains, manifestement tétraploïdes, mesurent 16μ .

Les prophases se multiplient. Certaines atteignent 20μ (fig. 10).

OFch 48^H



91

FIG. 10. — Prophase géante dans une racine de *Vicia Faba* traitée, pendant six heures, par une solution de chloral à 0,5 %, puis placée, pendant 48 heures, sur liquide de Knop à 1/2.

Enfin nous retrouvons d'authentiques *métaphases* et des *anaphases*. Parmi ces dernières figures, celles à 12 chromosomes voisinent avec

celles à 24 : le noyau tétraploïde en se divisant subit les processus normaux et donne deux noyaux tétraploïdes-fils (fig. 11).

La racine est revenue à son activité mitotique normale.



FIG. 11. — Figures anaphasiques dans une racine de *Vicia Faba* traitée, pendant six heures, par une solution de chloral à 0,5 %, puis placée, pendant 48 heures, sur liquide de Knop à 1/2. 88 et 89, anaphases diploïdes ; 90, anaphase tétraploïde.

La mitose et le noyau quiescent dans les racines cultivées sur chloral à 1 %.

1 heure. — LE NOYAU QUIESCENT. — Une heure après le retour sur le milieu normal, la racine nous montre un grand nombre de noyaux quiescents. Leur structure ne paraît pas abîmée; mais leur contour se dessine quelque peu irrégulier.

LA PROPHASE. — Dans les prophases les anses chromosomiques sont clivées mais épaisses, les constituants d'une même paire étant serrés-l'un contre l'autre.

LA STATHMOMÉTAPHASE. — Le terme de stathmométaphase peut s'appliquer à des cas assez divers.

Dans un premier cas, les chromatides disposés d'une façon quelconque sont groupés par paires (fig. 12, 97, 99). Il est possible de voir le centromère. Mais les chromatides restent toujours parallèles et l'ensemble occupe une position axiale dans la cellule.

1F ch1



FIG. 12. — Stathmométaphases dans une racine de *Vicia Faba* traitée, pendant six heures, par une solution de chloral à 1 %, puis placée, pendant une heure, sur liquide de Knop à 1/2.

Dans un deuxième cas, les chromatides dispersés dans la cellule, divisés en plusieurs groupes, quelquefois disjoints, font penser à des

anaphases modifiées par inhibition du fuseau (fig. 12, 95, 96, 97; pl. XVII, fig. 32).

6 heures. — LE NOYAU QUIESCENT. — Les noyaux quiescents offrent des dimensions et une structure normales. Quelques-uns d'entre eux, de profil irrégulier, sont subpycnotiques.

LA PROPHASE. — A côté de prophases d'allure normale, beaucoup présentent des filaments clivés, corrodés.

LA STATHMOMÉTAPHASE. — Les stathmométaphases gardent toujours le même aspect (Pl. XVII, fig. 33) : chromatides accouplées (12 paires réparties en désordre dans la cellule ou groupées en un amas parfois peu compact).

LA STATHMOTÉLOPHASE. — Ces figures sont rares, mais paraissent correspondre à des télophases normales, arrêtées par le chloral.

Nous avons observé, dans une même cellule, deux masses chromosomiques en voie de reconstitution probable. Le fuseau préexistant dégénère sous l'action du chloral, ne forme pas de cloison et il se constitue une cellule à deux noyaux.

24 heures. — LE NOYAU QUIESCENT. — Leur structure est inchangée et leurs dimensions sont normales.

LA MITOSE. — Entre 18 heures et 24 heures les figures de cinèse augmentent très rapidement.

Les *prophases* sont très nombreuses. Tous ses aspects sont représentés : réseau qui se déchire, formation et clivage des chromosomes.

Les *stathmométaphases* sont nombreuses. Dans l'ensemble elles ne présentent aucune modification par rapport à celles déjà observées;

Les *stathmotélophases* succèdent directement à ces stathmométaphases. Les chromosomes, par les processus ordinaires, s'anastomosent, s'alvéolisent et reconstituent le noyau quiescent. Mais le nombre de chromosomes est ainsi doublé : des noyaux tétraploïdes sont formés (Pl. XVII, fig. 34).

48 heures. — LE NOYAU QUIESCENT. — Les noyaux quiescents, dans leur ensemble, sont semblables à ceux d'une racine normale; parfois ils sont légèrement lobés. Les mensurations montrent l'existence de gros noyaux de 15 et 16 μ . Certaines cellules sont binucléées.

LA MITOSE. — Enfin reparaissent des *anaphases*, succédant à des *prophases* et à des *métaphases* normales avec fuseau.

Mais subsistent encore quelques figures anormales (*stathmométaphases* et *stathmotélophases*).

Résumé. — Dans les deux séries, le retour à la normale se fait d'une façon à peu près parallèle dans le temps et identique quant aux phénomènes cytologiques.

Le chloral inhibe la mitose, mais en lésant, d'autant plus gravement que son action est plus prolongée, le noyau et les chromosomes; si le traitement par le chloral n'excède pas six heures, les mitoses inhibées peuvent aboutir à la formation de noyaux tétraploïdes viables.

TRAITEMENTS DE 12 HEURES

Dans cette deuxième série, nous avons soumis — toujours, dans les mêmes conditions — des racines de *Vicia Faba* à l'action du chloral pendant une durée de 12 heures.

Morphologie de l'appareil radiculaire.

Aucune elongation n'est visible dans le milieu chloralisé et, comme précédemment, la teinte générale des racines devient grisâtre.

Pendant les 12 heures qui suivent le retour dans le liquide de Knop, n'a lieu aucun allongement et la couleur des racines reste entièrement grisâtre. Mais, dans les 6 heures suivantes — soit 18 heures après retour sur Knop — l'extrémité des racines devient blanche : un méristome sain est régénéré à l'extrémité de la racine traitée et commence à proliférer (fig. 13).

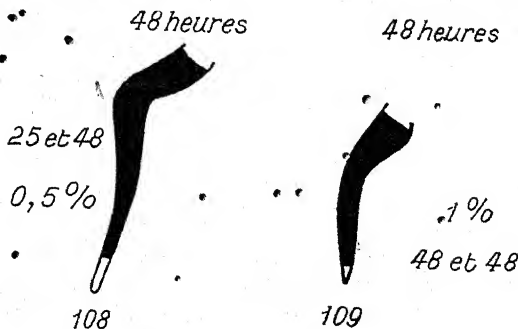


FIG. 13. — Aspect des racines de *Vicia Faba* traitées, pendant 12 heures, par une solution d'hydrate de chloral à 0,5 %, puis ayant séjourné, pendant 18 heures, dans du liquide de Knop : une pointe méristématique est régénérée au sommet de la racine noircie par le chloral.

La mitose et le noyau quiescent dans les racines cultivées sur chloral à 0,5 %.

1 heure. — LE NOYAU QUIESCENT. — Une heure après le retour sur le liquide de Knop, les noyaux quiescents, très nombreux, ont de 6 à 8 μ . Leur structure paraît peu altérée et le réseau chromatique, avec ses chromocentres, est nettement apparent.

LA MITOSE. — La racine fixée nous montre peu de figures de mitose.

On aperçoit quelques *prophases* et des *stathmométaphases*, dont les chromosomes, grêles, filamenteux, sont groupés en écheveau ou disposés sans ordre.

De rares figures permettent de croire à des *anaphases* arrêtées à leur début.

24 heures. — LE NOYAU QUIESCENT. — Les noyaux au repos sont en nombre élevé et mesurent, en général, $10\ \mu$; quelques-uns 15 à $16\ \mu$: ce sont des noyaux tétraploïdes formés entre 18 et 24 heures.

La structure est inchangée : le réseau est toujours net et pourvu de chromocentres.

LA MITOSE. — Les *prophases* sont nombreuses.

Les *stathmométaphases* et les *stathmotélophases* offrent les caractères habituels.

48 heures. — Au bout de 48 heures, les noyaux au repos sont inchangés. On observe de grandes figures *prophasiques* correspondant à des noyaux tétraploïdes, des *prophases* ordinaires et des *plaques équatoriales* pourvues de fuseau : la *métaphase* est de nouveau réalisée.

La mitose et le noyau quiescent dans les racines cultivées sur chloral à 1 %.

1 heure. — LE NOYAU QUIESCENT. — Le noyau au repos conserve en général sa structure; cependant le réseau paraît quelquefois légèrement contracté.

LA MITOSE. — Le chloral exerçant un effet inhibiteur sur le déclenchement de la mitose, nous n'avons pu observer, après un retour d'une heure dans le liquide de Knop, que quelques *prophases* et quelques *stathmométaphases*. Ces figures sont identiques à celles déjà décrites.

24 heures. — Les noyaux quiescents restent inchangés.

Toutes les figures de mitose sont représentées, sauf l'anaphase. En particulier on peut apercevoir des *stathmométaphases* à 24 chromatides réunies par paires et des *plaques équatoriales* à 12 paires normales.

Le retour à une activité normale. — De même que dans les cas précédents, le retour à l'état normal a lieu par l'apparition de véritables *métaphases*, suivies d'*anaphases* typiques, pourvues de leur fuseau.

Les *stathmométaphases* aboutissent, comme précédemment, à des *stathmotélophases*, puis à des noyaux tétraploïdes.

TRAITEMENTS DE 24 HEURES

Enfin, dans une dernière série, le séjour sur le milieu chloralisé a été prolongé pendant 24 heures.

Morphologie de l'appareil radiculaire chloralisé.

Pendant leur séjour dans les solutions chloralisées, les racines ont pris une teinte noirâtre, et ne présentent qu'une faible elongation.

Portées sur le milieu nutritif normal, le retour à la croissance normale n'a lieu qu'après 72 heures.

Les branches radicellaires apparaissent après 96 ou 120 heures suivant la concentration en chloral du milieu.

Dans tous les cas, on n'observe de tuméfaction subterminale, ni pour les méristèmes, ni pour les radicules.

La mitose et le noyau quiescent dans les deux solutions.

Aux deux concentrations, les noyaux au repos sont très nombreux; leur structure est, dans certains cas, altérée, leur profil déchiqueté. Quelques-uns sont pycnotiques.

Les figures de mitose, comme dans tous les cas précédents, sont d'abord des *stathmotéphases* identiques à celles déjà décrites.

Les *prophases* sont rares.

Les *stathmotéphases* restent peu nombreuses.

Ce n'est que plus tard — bien plus que dans les autres séries — qu'a lieu le retour vers un état normal; en même temps apparaissent des noyaux tétraploïdes dans la racine.

Résumé. — Dans toutes les séries d'expériences, et quelle que soit la durée du séjour dans la solution d'hydrate de chloral, celui-ci empêche tout déclenchement de la mitose, arrête la division en cours, provoque la disparition du fuseau, inhibe le cloisonnement cellulaire.

Lorsque son influence disparaît, les figures anormales évoluent vers un nouvel état de choses en donnant des noyaux à $4n$ chromosomes. Dès ce moment les processus caryocinétiques sont normaux.

Le retour à l'état normal a lieu d'autant plus rapidement que le séjour sur la solution chloralisée est plus court et que la concentration en chloral est moins élevée.

Dans tous les cas, on n'obtient que des noyaux tétraploïdes au maximum.

Enfin, les cellules binucléées sont assez nombreuses dans le méristème chloralisé, soit par suite d'une fragmentation nucléaire, soit, surtout, par suite de l'inhibition du fuseau, à l'anaphase ou après l'anaphase, entre les chromosomes émigrant vers les pôles.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Ressemblances et différences entre l'action de la colchicine et celle du chloral.

Les ressemblances. — L'action du chloral et celle de la colchicine présentent entre elles des ressemblances concernant spécialement le fuseau et les noyaux tétraploïdes.

INHIBITION DU FUSEAU. — Dans les deux cas, le fuseau est inhibé. Son rôle directeur est donc supprimé. Les chromosomes divisés, à la métaphase, restent sur place, dispersés dans la cellule.

La disparition du fuseau entraîne l'inhibition du cloisonnement.

LES NOYAUX TÉTRAPLOÏDES. — Par suite de l'inhibition du fuseau, la séparation des chromatides est impossible; celles-ci s'alvéolisent sur place et, par ce processus, est réalisé un noyau ayant doublé son équipement chromosomique. C'est ce que permettent la colchicine et le chloral avec retour sur Knop. Toutefois, il n'y a de ressemblance entre l'action des deux substances, dans ce pouvoir de multiplication du nombre des chromosomes, que jusqu'à la tétraploïdie. Encore faut-il remarquer que, pour obtenir un noyau tétraploïde, il est nécessaire de se placer dans des conditions différentes pour chaque substance; en particulier, il faut qu'après avoir détruit le fuseau, l'influence du chloral s'atténue et même disparaisse. L'action du chloral qui permet d'obtenir un noyau à $4n$ chromosomes est une action destructive, tandis que l'action de la colchicine ne l'est pas.

Les différences. — FAIBLE TOXICITÉ DE LA COLCHICINE, FORTE TOXICITÉ DU CHLORAL. — *Les effets sur le cytoplasme et le chondriome.* — Les effets de ces deux substances sur le chondriome sont nettement différents.

Le chloral détruit le chondriome et les plastes. Son action atteint progressivement, mais assez rapidement, tous ces organites.

La colchicine reste sans action visible sur eux. Du premier jour au dernier jour, le chondriome subsiste. Nos observations confirment donc celles de DELCOURT qui, d'une étude sur les effets produits par la colchicine chez les Batraciens, conclut que cet alcaloïde n'altère pas le chondriome.

Les effets sur la stathmocinèse. — L'effet le plus frappant de la colchicine est la *multiple répétition* de la stathmocinèse dans les racines.

La division colchicinique ne permet pas aux chromatides constituant les paires de se séparer après la stathmométaphase. Celles-ci s'alvéolisent sur place et reconstituent ainsi un noyau tétraploïde.

Mais les effets de la colchicine sont *itératifs* : les noyaux tétraploïdes peuvent entrer en prophase et, par les mêmes processus, redoubler à nouveau leur équipement chromosomique. Ce phénomène se répète et aboutit à des noyaux hyperpolyploïdes, à tel point que, dans les racicelles, plus sensibles à l'action colchicinique, comme MANGENOT l'a déjà montré pour d'autres objets, les chromosomes sont si nombreux qu'il devient presque impossible de les dénombrer. On obtient ainsi des noyaux gigantesques, incisés et flécoupés.

Le traitement par le chloral inhibe également la mitose; mais, *s'il n'est pas interrompu*, l'appareil nucléaire est, comme l'ensemble de la cellule, profondément altéré : noyaux et amas chromosomiques s'affaiblissent et subissent une dégénérescence pycnotique; si le traitement par le chloral *est interrompu assez tôt*, les chromatides dispersées peuvent reconstituer un noyau tétraploïde. *En aucun cas, l'action du chloral n'est itérative* (1).

Les traits essentiels de l'action de la colchicine.

Action sur la mitose. — LA COLCHICINE PROLONGE LA DURÉE DES DIVERS STADES MITOTIQUES. — *Stathmométaphases.* — Son action se fait surtout sentir sur la stathmométaphase. L'accumulation progressive des images de stathmométaphase, à mesure que se prolonge l'action de l'alcaloïde, n'est nullement le résultat, comme le montrent les statistiques, d'une stimulation des prophases : le nombre de celles-ci n'augmente pas sensiblement; mais les chromosomes dispersés dans la cellule y séjournent longtemps, sans présenter d'autres changements qu'une séparation de leurs deux moitiés longitudinales, avant de subir les processus de catachromase caractéristiques de la stathmotélophase.

Inhibition du fuseau. — Le fuseau est inhibé. La caryolympe se répand dans la cellule, sans constituer de figure achromatique. Les chromatides attachées par leur centromètre, réparties dans le cytoplasme, ne peuvent ni s'agencer en plaque équatoriale, ni se disjoindre en deux groupes. Le cloisonnement cellulaire est supprimé.

LA COLCHICINE PROVOQUE LA DISPARITION PROGRESSIVE DES MITOSES. — DUSTIN et ses collaborateurs ont insisté sur le fait que, chez les Mammifères et les Batraciens, la colchicine *stimule* la mitose :

(1) LEFFÈVE a très justement remarqué que le chloral « semble posséder des seuils d'action et de toxicité beaucoup trop voisins » pour permettre, dans des conditions pratiques, l'obtention de polyploïdes. D'ailleurs, BLAKESLEE avait essayé, sans succès, d'obtenir des tétraploïdes par injection de chloral dans l'ovaire. Nos recherches confirment la toxicité du chloral et permettent de comprendre ces échecs.

elle provoque une poussée mitotique massive dans tous les organes dont tous les noyaux sont en état d'*imminence caryocinétique*. D'autres biologistes (ALLEN, SMITH et GARDNER et, avec eux, la plupart des auteurs de l'école américaine) estiment, au contraire, que l'alcaloïde produit exclusivement un effet d'arrêt : les figures stathmocinétiques correspondent à un stade de longue durée et, par conséquent, s'accumulent. Les numérations, dont nous avons plus haut indiqué les résultats, relatives aux divers stades mitotiques dans les racines normales et colchicinées, n'indiquent en aucune manière une poussée mitotique de l'ampleur de celle observée par les chercheurs de l'École de Bruxelles; les pourcentages de prophases observés dans les racines colchicinées sont à peine plus élevés que ceux des racines normales. Par contre, l'action lointaine de la colchicine est nettement inhibitrice; sous l'influence de l'alcaloïde, les noyaux cessent peu à peu de se diviser et, dans les méristèmes traités pendant huit à dix jours, tous les noyaux sont quiescents.

Action hypertrophique sur le noyau. — La colchicine n'agit pas seulement sur le noyau en cours de mitose pour redoubler le nombre des chromosomes; son influence paraît s'étendre également aux noyaux interphasiques. Elle provoque, en effet, dans ces derniers, une augmentation de leur volume.

L'une des causes de l'accroissement du volume nucléaire est la reconstitution stathmotélophasique de noyaux tétraploïdes, puis octoploïdes, puis polyploïdes, qui aboutit à de gros noyaux. Mais ce mécanisme devient de moins en moins efficace à mesure que décroît l'activité mitotique.

Or les mensurations effectuées montrent, au contraire, à mesure que dure le traitement, un accroissement général et progressif du volume des noyaux interphasiques.

Il faut donc admettre, pour expliquer ce fait, que la colchicine permet un accroissement du volume nucléaire, accroissement plus marqué au niveau des ébauches radicellaires, où les noyaux sont plus gros que dans les méristèmes initiaux. Nos conclusions sur ce point ont, d'ailleurs, été vérifiées par SIMONET et GUINOCHE.

Cellules parasitées et cellules colchicinées. — Les parasites déterminent dans la plante qu'ils attaquent une irritation qui se traduit par des phénomènes d'ordre morphologique et cellulaire.

Dans les cas les plus fréquents l'action du parasite amène la formation d'une tumeur, par un développement des tissus de l'organe dû à une active prolifération. Cette hyperplasie s'accompagne de l'hypertrophie des cellules, et leur volume est tel que l'on peut leur donner le nom de cellules géantes.

Le noyau lui-même subit cette hypertrophie. Il se déforme, présente des plis profonds séparant autant de lobes et peut se fragmenter. La cellule contient alors de nombreux noyaux.

On ne peut se défendre de remarquer combien ces noyaux, *cependant formés sans l'intervention d'aucun mécanisme stathmocinétique*, ressemblent à ceux que l'on observe dans les racines colchicinaées; et cette comparaison suggère l'explication suivante: l'hypertrophie des cellules et des noyaux, dans une cécidie, serait moins une réaction directe de l'hôte à la sécrétion de produits toxiques par le parasite, qu'une conséquence de l'afflux de matériaux nourriciers vers le foyer de consommation représenté par le parasite; on peut de même interpréter la présence de noyaux géants dans l'appareil placentaire des Floridées, dans certains suçoirs micropylaires, dans les assises nourricières des tétraspores chez certaines plantes (cf. GUILLIERMOND, MANGENOT, PLANTEFOL, *Traité de Cytologie*, p. 1022); de même, dans un méristème colchiciné, dont les cellules restent vivantes, les matériaux nourriciers élaborés dans les parties vertes de la plante continuent d'affluer; mais ils n'y sont plus immédiatement consommés, puisque toute prolifération est inhibée; d'où la tuméfaction des noyaux, des cellules et de l'organe lui-même; les processus stathmocinétiques itératifs accentuent encore, ici, la tuméfaction nucléaire; enfin, nous ne méconnaissons pas l'intervention certaine des auxines, dans ce cas comme dans celui des cécidies. Des recherches ultérieures permettront sans doute de confirmer ou d'infirmer ces considérations et de préciser les mécanismes en jeu dans des phénomènes apparemment très divers, mais que rapproche, en réalité, un conditionnement physiologique commun.

CONCLUSIONS

Les faits nouveaux suivants résultent de nos expériences.

La colchicine exerce, sur la cellule, un effet toxique très peu marqué: le chondriome n'est pas sensiblement altéré; la structure du noyau quiescent et celle des chromosomes restent intactes, même après un traitement prolongé; la colchicine n'est pas un poison de la structure; elle ne modifie que les fonctionnements; outre la déviation de la mitose, elle permet une hypertrophie nucléaire et accélère la différenciation des cellules; ces effets sont plus marqués dans les ébauches radicellaires que dans les méristèmes apicaux.

Le chloral exerce, sur la cellule, un effet toxique très marqué: il détruit le chondriome et altère profondément la structure et l'état physico-chimique du noyau quiescent et des chromosomes; le chloral est un poison de la structure; mais il modifie aussi les fonctionnements et, si son action n'est pas de très longue durée, il peut conduire à la formation de noyaux tétraploïdes viables par inhibition du fuseau. Par contre, le chloral ne permet aucune hypertrophie nucléaire et n'agit pas sur la différenciation cellulaire.

Les ressemblances indiquées entre les effets produits par le chloral et ceux produits par la colchicine sont donc purement superficielles et les effets pharmacodynamiques de ces deux substances sont, en réalité, profondément différents.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ALLEN (E.), SMITH (G. M.) et GARDNER (W. U.). — Accentuation of the growth effect of theelin on genital tissues of the ovariectomized mouse by arrest of mitosis by colchicine. — *The Americ. Journ. of Anat.*, **61**, 321-329, 1937.
- BLAKESLEE (A.-F.). — Dédoublément du nombre des chromosomes chez les plantes par traitement chimique. — *C. R. Ac. des Sc.*, **205**, 476, 1937.
- DELCOURT (R.). — Recherches sur les réactions et lésions cellulaires provoquées par la colchicine. Le choc caryoclasique chez les Amphibiens. — *Arch. intern. Méd. exp.*, **13**, 719-783, 1939.
- DUSTIN (A. P.). — La cytotoxicologie et ses applications récentes. — *Ann. (Bull.) Soc. roy. Sc. méd. et nat. de Bruxelles*, 27 p., 1939 (cette conférence comporte une bibliographie très complète des travaux sur les effets cytologiques provoqués par la colchicine chez les Animaux et chez les Végétaux).
- FYFE (J. L.). — The action and use of colchicine in the production of polyploid plants. — *Imp. Bureau of Plant Breed. and Gen.*, **576.356** : 511.03, 10 p., 1^{er} avril 1939.
- GARRIGUES (R.). — Action de la colchicine et du chloral sur les racines de *Vicia Faba*. — *C. R. Ac. des Sc.*, **203**, 461, 1939.
- GAVAUDAN (P. et N.). — Comparaison du mode d'action de quelques substances inhibitrices de la caryocinèse. — *C. R. Soc. de Biol.*, **130**, 432, 1939.
- GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — *Traité de Cytologie végétale*, 1195 p., Le François, édit., Paris, 1933.
- LEFÈVRE (J.). — Similitude des actions cytologiques exercées par le phényl-uréthane et la colchicine sur des plantules végétales. — *C. R. Ac. des Sc.*, **203**, 301, 1939.
- MANGENOT (G.). — L'action de la colchicine sur les cellules végétales. — *C. R. Ac. des Sc.*, **203**, 222, 1939.
- ID. — Ébauches radicellaires et colchicine. — *C. R. Ac. des Sc.*, **203**, 1105, 1939.
- NEMEC (B.). — Über die Einwirkung des Chloralhydrats auf die Kern- und Zellteilung. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, **39**, 645-737, 1904.
- ID. — Multipolare Teilungen in chloralisierten Wurzeln. *Vestnik Kral. ces. spol. nauk.*, Bd 2, 1929a.

- SAKAMURA. — Ueber die Einschnürung der Chromosomen bei *V. Faba*.
Bot. Mag. Tokyo, 29, 287-300, 1915.
- Id. — Ueber die Beeinflussung der Zell- und Kernteilung durch die Chloralisierung mit besondere Rücksicht auf das Verhalten der Chromosomen. *Bot. Mag. Tokyo*, 30, 1916.
- SIMONET (M.) et GUINOCHET (M.). — Comparaison de l'action, sur le Blé et le Lin, de diverses substances provoquant des anomalies de la caryocinèse. — *C. R. Ac. des Sc.*, 203, 1667, 1939.
- VAN REGEMORTER (D.). — Les troubles cinétiques dans les racines chloralisées et leur portée pour l'interprétation des phénomènes normaux. *La Cellule*, 37, 43-72, 1926-1927.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE XVI

Toutes les colorations sont faites au Feulgen, précédées par la fixation au Helly.

La colchicine.

- 1, 2, 3, Traitement colchicinique de 1 jour.
 - 1, 2, Noyaux quiescents du méristème initial et de la zone subterminale. Le réseau n'est nullement modifié.
 - 3, Stathmotélophase : les chromosomes sont anastomosés; un début d'alvéolisation est manifeste, mais tous gardent leurs formes nettement visibles.
- 4, 5, 6, Traitement de 48 heures.
 - 4, 5, Noyaux quiescents de dimensions déjà supérieures à la normale, et dont chacun présente une incisure.
 - 6, Stathmométaphase : les chromatides sont plus ou moins séparées; remarquer une C- paire en croix.
- 7, 8, 9, Traitement de 4 jours dans le milieu colchiciné.
 - 7, Noyau quiescent dans le méristème initial, de contour irrégulier et possédant quatre nucléoles. Le réseau chromatique est intact.
 - 8, Prophase, avec deux nucléoles, dans le méristème initial.
 - 9, Prophase dans une ébauche radicellaire.
- 10, 11, 12, 13, Traitement de 6 jours par la colchicine.
 - 10, Noyau quiescent dans le méristème initial.
 - 11, Prophase dans le méristème initial.
 - 12, Stathmotélophase dans le méristème initial. Remarquer les chromosomes alvéolisés et anastomosés.
 - 13, Noyau quiescent de 43 μ dans une ébauche radicellaire. Comparer avec la figure 10.

- 14, 15, Traitement de 7 jours par la colchicine. Ces deux figures proviennent des ébauches radicellaires.
- 14, Stathmométaphase : les chromosomes sont dispersés dans l'aire fusoriale. Cette figure ne montre qu'une partie seulement des chromosomes de la stathmométaphase.
- 15, Stathmotélophase : de même que dans la figure 14, on ne voit là qu'une partie de la figure télophasique.

PLANCHE XVII

Les colorations ont été faites au Feulgen, après fixation au Helly.

- 16, 17, 18, 19, Traitement colchiciné de 8 jours.
- 16, Noyau quiescent du méristème initial, multilobé, incisé et possédant de nombreux nucléoles de formes diverses.
- 17, Prophase dans le méristème initial.
- 18, Stathmotélophase dans le méristème initial. Noter la persistance des formes des chromosomes malgré leur alvéolisation et leurs anastomoses. Les nucléoles sont déjà nombreux.
- 19, Noyau quiescent d'une ébauche radicellaire. Son grand axe atteint 83 μ . Comparer avec la figure 16 de même âge, mais provenant du méristème initial.

Le chloral.

- 20, 21, Traitement chloralisé de 1 jour, à 0,5 %. Noyaux quiescents du méristème apical et de la zone subterminale.
- 22, 23, 24, Traitement de 4 jours dans l'hydrate de chloral à 0,5 %.
- 22, Noyau quiescent, avec travées déchirées.
- 23, Noyau quiescent dont le réseau est contracté et altéré. Les dimensions sont inférieures à celles d'un noyau normal de même âge.
- 24, Prophase.
- 25, 26, 27, Traitement de 6 jours dans le chloral à 0,5 %.
- 25 et 26, Noyaux quiescents.
- 27, Stathmométaphase : les chromosomes, altérés, sont agglomérés en un paquet d'où émergent quelques-unes de leurs extrémités.
- 28, 29, Traitement de 8 jours dans le chloral à 0,5 %.
- 28, Noyau quiescent. Remarquer sa structure contractée.
- 29, Prophase bloquée dans son évolution par le chloral.
- 30, 31, 32, Traitement de 6 heures sur chloral à 0,5 %, suivi d'un retour de 6 heures sur Knop dilué de moitié.
- 30, Noyau quiescent déchiqueté, indenté.
- 31, Prophase.
- 32, Stathmométaphase.
- 33, Traitement de 6 heures par le chloral à 1 %, suivi du retour sur Knop pendant 6 heures : stathmométaphase.
- 34, Traitement de 6 heures sur chloral à 0,5 % suivi du retour sur Knop pendant 24 heures.
- Stathmotélophase : les deux masses chromosomiques en voie d'alvéolisation sont réunies par un lien chromosomique. Celui-ci peut se rompre et la cellule sera binucléée.

TABLE DES MATIÈRES

du Tome IV.

	PAGES
G. GAZET DU CHATELIER : Sur les particularités cytologiques des Sterculiacées.....	1-79
R. DE LITARDIÈRE : Sur les caractères chromosomiques et la systématique des <i>Poa</i> du groupe <i>P. annua</i> L...	81-85
P. GISQUET, J. DUFRÉNOY et M ^{me} A. DUSSEAU : Introduction à l'étude d'hybrides interspécifiques de <i>Nicotiana</i> .	86-91
YVES RAOUL : Remarques sur la technique microchimique de localisation des alcaloïdes. Étude du cas particulier de l'Hordénine.....	92-100
ANDRÉ THÉRON : Recherches morphologiques et cytologiques sur les fleurs de <i>Viola odorata</i>	101-118
PIERRE MARTENS : Victor Grégoire (1870-1938).....	119-121
Geneviève DALLEUX : Recherches sur les plasmodies de deux Myxomycètes.....	123-182
Cécile DELAY : Recherches sur le noyau des Légumineuses.	183-230
M. SIMONET et R. CHOPINET : Sur l'obtention de plantes octoploïdes et hétéroploïdes après traitement par la colchicine.....	231-238
A. REDON : Recherches sur la coloration vitale et la formation des précipités vacuolaires. Morphologie du système vacuolaire des hyphes lichéniques.....	239-260
R. GARRIGUES : Action de la colchicine et du chloral sur la racine de <i>Vicia Faba</i>	261-301

Vu : le Gérant, G. MASSON.



OBERTHUR, sc.

14

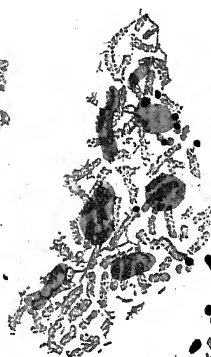
15

R. GARRIGUES, del.

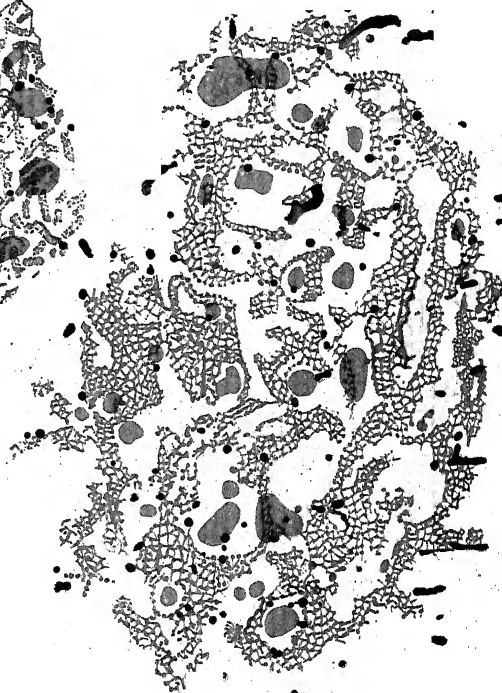
Colchicine et noyaux des méristèmes radiculaires de *Vicia Faba*.



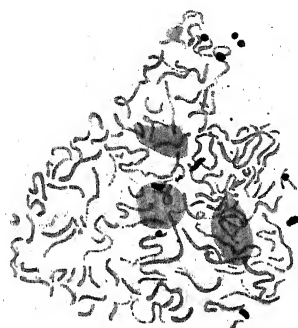
16



18



19



17



20



21



22



23



24



25



26



27



28



29



30



31



32



33



34

R. GARRIGUES, del.

Colchicine (16-19), chloral (20-34) et noyaux des méristèmes radiculaires